UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

1947-1948. — N° 186

LE CRAPAUD MALE VULGAIRE
ET
L'HORMONE GONADOTROPE GRAVIDIQUE

Travail du Laboratoire de Biologie de l'Hôpital Saint-André (Docteur SERVANTIE)

THÈSE POUR LE DOCTORAT EN MÉDECINE

Présentée et soutenue publiquement le vendredi 30 juillet 1948

PAR

Roger CHAPOUX

Elève de l'Ecole Principale du Service de Santé de la Marine
Diplômé de Biologie et Médecine appliquées à l'Éducation physique et aux Sports
Né à NONARDS (Corrèze), le 1er février 1922

Examinateurs de la Thèse

MM. RIVIERE, professeur ..... *Président.*
DUBREUIL, professeur ..... *Juges.*
SIGALAS, professeur ..... *Juges.*
MAYER, agrégé ..... *Juges.*

BORDEAUX
IMPRIMERIE LIBRAIRIE DELMAS
6, Place Saint-Christoly, 6

1948

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41536526_0052

UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

1947-1948. — N° 186

LE CRAPAUD MALE VULGAIRE

ET

L'HORMONE GONADOTROPE GRAVIDIQUE

Travail du Laboratoire de Biologie de l'Hôpital Saint-André (Docteur SERVANTIE)

THÈSE POUR LE DOCTORAT EN MÉDECINE

Présentée et soutenue publiquement le vendredi 30 juillet 1948

PAR

Roger CHAPOUX

Elève de l'Ecole Principale du Service de Santé de la Marine
Diplômé de Biologie et Médecine appliquées à l'Éducation physique et aux Sports
Né à NONARDS (Corrèze), le 1er février 1922

Examinateurs de la Thèse

MM. RIVIERE, professeur ..... *Président.*
DUBREUIL, professeur ..... *Juges.*
SIGALAS, professeur ..... *Juges.*
MAYER, agrégé ..... *Juges.*

BORDEAUX
IMPRIMERIE LIBRAIRIE DELMAS
6, Place Saint-Christoly, 6

1948

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE BORDEAUX

DOYEN : M. DUPÉRIÉ.

ASSESSEUR : M. CHELLE.

PROFESSEURS HONORAIRES :

MM. DENIGÈS, H. MANDOUL, PETGES, GUYOT,
ROCHER, LANDE, DUVERGEY, CARLES, LEURET, PÉRY, LABAT.

PROFESSEURS :

	MM.
Clinique médicale	DUPÉRIÉ.
id.	CREYX.
Clinique chirurg. et gynécol.	CHARRIER.
Clinique chirurgicale	PAPIN.
Clinique d'accouchements	RIVIÈRE.
Anatomie pathol. et microsc. clin.	DE GRAILLY.
Anatomie	VILLEMIN.
Anatomie générale et histologie.	G. DUBREUIL.
Hygiène	PIÉCHAUD.
Médecine légale et déontologie.	DERVILLÉE.
Electroradiol. et clin. d'él. médic.	REBOUL.
Chimie	CHELLE.
Botanique et matière médicale	GOLSE.
Pharmacie	VITTE.
Physiologie	FABRE.

	MM.
Zoologie et parasitologie	R. SIGALAS.
Médecine expérimentale	AUBERTIN.
Clinique ophtalmologique	BEAUVIEUX.
Clinique chirurg. inf. et orthop.	LOUBAT.
Clin. des maladies infectieuses	DAMADE.
Chimie biologique et médicale	MACHEBŒUF.
Physique méd. et pharmaceutique.	PIFFAULT.
Méd. col. et clin. mal. exotiques.	BONNIN.
Clin. malad. cutanées et syphilit.	JOULIA.
Clin. des mal. des voies urinaires.	DARGET.
Clin. mal. nerveuses et mentales.	DELMAS-MARSALET
Clin. d'oto-rhino-laryngologie	PORTMANN.
Toxicologie et hygiène appliquée.	CASTAGNOU.
Clinique odonto-stomatologique	DUBECQ.
Clin. méd. des mal. des enfants.	FONTAN.

PROFESSEUR A TITRE PERSONNEL :

M. GIRARD.

PROFESSEURS SANS CHAIRE :

MM. PERRENS (Maladies mentales) ; — DUFOUR (Anatomie) ;
MESNARD (Pharmacie).

MAITRE DE CONFÉRENCES :

M. BLANQUET (Physique pharmaceutique).

AGRÉGÉS EN EXERCICE :

	MM.
Anatomie	N...
Physiologie	N...
Médecine générale	BROUSTET.
id.	SARIC.
id.	DUBARRY.
id.	F.-J. TRAISSAC
id.	BERGOUIGNAN.
Pédiatrie et puériculture	VERGER.
Chirurgie générale	MASSÉ.
id.	MAGENDIE.
id.	POUYANNE.
id.	LAUMONIER.
id.	CHAVANNAZ.

	MM.
Chimie biologique	TAYEAU.
Obstétrique	N...
id.	MAHON.
Ophtalmologie	BESSIÈRE.
Oto-rhino-laryngologie	DESPONS.
Dermatologie et syphiligraphie	LE COULANT.
Histologie	MAYER.
Physique médicale	N...
Chimie gén. pharm. et toxicol.	N...
Histoire natur. méd. et parasitol.	N...
Pédiatrie et puériculture	VERGER.
Méd. légale et méd. du travail.	L'ÉPÉE.
Electroradiologie	LACHAPÈLE.
Odonto-stomatologie	MARONNEAUD.

COURS COMPLÉMENTAIRES :

	MM.
Médecine opératoire	MASSÉ.
Accouchements	N...
Puériculture	PERY.
Urologie	N...
Législation pharmaceutique	POPLAWSKI.
Ophtalmologie	N...
Anatomie	RIGAUD.
Chimie minérale	N...

	MM.
Botanique	GIRARD.
Cryptogamie	GIRARD.
Pharmacie galénique	MESNARD.
Bactériologie	MOUREAU.
Physiologie	Mlle ROUGIER.
Chimie biologique	N...
Parasitologie et biologie appliqu.	PAUTRIZEL.
Pathologie chirurgicale	LAUMONIER.
Electroradiologie	CAILLON

Le Secrétaire de la Faculté : ROUGERIE.

Par délibération du 5 août 1879, la Faculté a arrêté que les opinions émises dans les Thèses qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle entend ne leur donner ni approbation ni improbation.

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

A LA MEMOIRE DE MON PERE

Il rêvait de me voir un jour médecin.

A MA MERE

Qui a travaillé pour que je le devienne.

A MA COMPAGNE DE TOUS LES JOURS

A MES BEAUX-PARENTS

A TOUTE MA FAMILLE

A TOUS MES AMIS

A Monsieur le Professeur agrégé MAGENDIE

Chirurgien des Hôpitaux,
Croix de guerre.

A qui je dois l'Idée, en le remerciant de son accueil.

A Monsieur le Docteur SERVANTIE

Biologiste des Hôpitaux,
Directeur du Laboratoire de Biologie
de l'Hôpital Saint-André.

Qui m'a permis de réaliser ce travail. Il n'a ménagé, pour m'aider, ni ses conseils, ni sa peine.

A MES CAMARADES DE L'ECOLE DE SANTE NAVALE

A Monsieur le Médecin Général de 2e classe GALIACY

Directeur de l'Ecole principale
du Service de Santé de la Marine et des Colonies,
Commandeur de la Légion d'honneur,
Médaille de la Résistance,
Croix de guerre.

A Monsieur le Médecin en Chef de 2e classe SIMON

Sous-Directeur de l'Ecole principale
du Service de Santé de la Marine et des Colonies,
Officier de la Légion d'honneur,
Officier d'Académie,
Médecin des Hôpitaux maritimes,
Médaille d'Argent de l'Education physique.

A NOS JUGES :

Monsieur le Professeur G. DUBREUIL

Professeur d'Anatomie générale et d'Histologie,
Membre correspondant de l'Académie de Médecine,
Chevalier de la Légion d'honneur,
Officier de l'Instruction publique.

Monsieur le Professeur R. SIGALAS

Professeur de Zoologie et de Parasitologie,
Directeur honoraire de la Station biologique d'Arcachon,
Chevalier de la Légion d'honneur,
Croix de guerre,
Officier de l'Instruction publique.

Monsieur MAYER

Professeur agrégé d'Histologie et d'Embryologie
à la Faculté de Médecine de Bordeaux.

A NOTRE PRESIDENT DE THESE

Monsieur le Professeur RIVIERE

Professeur de Clinique d'accouchements,
Chevalier de la Légion d'honneur,
Croix de guerre,
Officier de l'Instruction publique.

En le remerciant respectueusement de l'accueil bienveillant qu'il nous a toujours réservé.

AVANT-PROPOS

Nous devons à M. le Professeur agrégé Magendie de nous avoir aiguillé sur le sujet de notre thèse; et nous avons apprécié tous les avantages de son Service. Le diagnostic biologique de la grossesse représente en gynécologie un problème capital. Il y a donc intérêt à chercher un test de plus en plus précis et même à multiplier les différents tests pour obtenir une réponse donnant une sécurité presque complète. Les travaux faits avec l'urine de femme enceinte sur les crapauds mâles exotiques méritaient d'être poursuivis en utilisant nos batraciens indigènes. Nous avons donc cherché à nous procurer des crapauds mâles tout en nous documentant sur leur anatomie et leur physiologie, spécialement sur la fonction sexuelle. Les Laboratoires Butox se sont fait un plaisir de nous aider, et nous leur saurons toujours gré de leur geste généreux et courtois.

Nous ne saurions assez témoigner toute notre reconnaissance à M. Avel, Professeur de Zoologie à la Faculté des Sciences, pour son accueil, pour la documentation qu'il nous a fournie et la critique si hautement qualifiée qu'il a bien voulu faire de nos résultats.

Nous avons, grâce au Docteur Servantie, biologiste des Hôpitaux, directeur du Laboratoire de biologie de l'Hôpital Saint-André, trouvé le lieu d'expérimentation le plus favorable avec tout le matériel et les animaux que nous pouvions souhaiter. C'est dans son Centre de recherches que nous avons travaillé en profitant de tous les documents et de toutes les facilités désirables. Nous ne saurions trop remercier le Docteur Servantie de tout le temps qu'il nous a consacré, de tout l'effort matériel qu'il a consenti, grâce auxquels une idée

ébauchée sans certitude d'aboutir s'est transformée en une réalisation pleine d'avenir.

Nous remercions aussi les Docteurs Bonnard et Berge pour leurs examens histologiques; notre camarade Conardeau pour son talent photographique; la sœur Anne-Marie pour sa patience et son dévouement; M. Cambar, chef des travaux à la Faculté des Sciences, pour les précieux renseignements qu'il nous a donnés. Et enfin tout le personnel du Laboratoire de biologie de l'Hôpital Saint-André et du Service de gynécologie de l'Hôpital André-Boursier pour son aide indispensable.

LE CRAPAUD MALE VULGAIRE

ET

L'HORMONE GONADOTROPE GRAVIDIQUE

INTRODUCTION

Depuis la découverte des premières hormones, de nombreux travaux on été menés à bien, d'immenses progrès accomplis. Leur nombre s'est accru, leur connaissance s'est étendue, beaucoup ont même pu être synthétisés, prenant alors rang parmi des composés chimiques bien connus. Et, parfois, l'intérêt qu'elles soulevaient passant dans le domaine thérapeutique et commercial, certaines d'entre elles ne semblent plus guère captiver l'intérêt des savants.

Mais il en est une qui demeure partiellement réfractaire aux recherches les plus poussées, ne laissant dévoiler ni sa véritable nature chimique, ni même encore sa multiplicité. Si on a pu l'isoler, si l'on peut à volonté extérioriser ses effets grâce à des réactifs nombreux et souvent très spécifiques, elle reste encore sur bien des points, mystérieuse.

Et ce mystère, en partie lié avec celui de la vie, puisqu'elle préside aux fonctions de reproduction, sera probablement élucidé un jour. En effet, les recherches se multiplient, les expériences se poursuivent et, en s'ajoutant les unes aux

autres, arriveront, sans nul doute, à constituer un tout, un système cohérent qui sera une vérité.

Néanmoins, l'hormone gonadotrope gravidique a plus particulièrement intéressé les chercheurs grâce à ce fait très important qu'elle a permis un diagnostic précoce de la grossesse, diagnostic dont l'utilité médico-sociale n'est plus à démontrer. Aussi bien, de nombreuses méthodes ont-elles été mises au point, utilisant des animaux divers, mâles ou femelles, pubères ou impubères, hypophysectomisés ou non. Les poissons ont été essayés, les rongeurs ont donné les résultats que l'on connaît. La vogue est à présent aux batraciens.

C'est en prenant connaissance des travaux faits à l'étranger sur ces vertébrés à sang froid que nous avons raisonné par analogie et pensé que les batraciens de France pouvaient peut-être aussi réagir aux hormones gonadotropes. Les résultats obtenus ont été, sinon inattendus, du moins un peu surprenants, et ce sont eux que nous nous proposons de faire connaître dans ce travail, sous une forme rudimentaire, certes, mais peut-être perfectible si la loi des grands nombres parvient à les confirmer.

Après avoir fait un rappel des divers tests de grossesse, anciens et modernes, nous résumerons autant que possible le problème de l'hormone gonadotrope hypophysaire et gravidique. Nous nous intéresserons davantage aux tests dits classiques de la grossesse, et à ce qui concerne les nouvelles acquisitions, tant dans le domaine des perfectionnements techniques apportés à l'utilisation des rongeurs que dans le domaine des techniques récentes de l'utilisation des batraciens.

Nous parlerons des problèmes posés par la biologie du testicule, et de ce qu'on sait à propos de la réponse de cet organe aux excitations apportées par les sécrétions antéhypophysaires et par les prolans.

Nous décrirons le crapaud vulgaire et rapporterons quel-

ques faits curieux à propos de la physiologie, des mœurs et de l'utilisation thérapeutique de cet intéressant animal.

Nous continuerons en rapportant la série de nos expériences dans l'essai d'un diagnostic couplé (crapaud-lapine) de l'état de gravidité, abordant ensuite la critique du test.

Nous relaterons nos tentatives d'explication du déterminisme de ce test grâce à la technique d'hémi-castration.

Et, après avoir envisagé l'extension et l'avenir de la méthode, nous aborderons les conclusions.

CHAPITRE PREMIER

LA RECHERCHE D'UN TEST DE GROSSESSE

Tests anciens et modernes.

Depuis un demi-siècle, de nombreux chercheurs se sont évertués, chacun dans leur domaine — chimie, physico-chimie, histologie, biologie — à trouver un moyen idéal de diagnostiquer l'état de gravidité. L'émulation aidant sans doute, des techniques ont vu le jour, mais n'ont pas reçu, le plus souvent, la sanction pratique qui était le but désiré. Car ces réactions, quel que soit leur intérêt du point de vue scientifique, ne répondaient pas aux desiderata indispensables : fidélité, spécificité, sensibilité, facilité, précocité, rapidité. Quelles sont ces techniques aspécifiques et désuètes pour la plupart ? En compulsant la littérature, nous trouvons :

1° Des tests chimiques basés sur certaines particularités des humeurs de la femme enceinte :

a) *du sang :*

— existence d'un taux élevé du fer sérique, de l'histamine, du cholestérol;

— réaction de Manoïloff à la théobromine;

b) *des urines :*

— augmentation de l'histidine (Kappeler-Adler);

— diminution de l'acide hippurique formé après ingestion de benzoate de soude;

— présence d'acides aminés (réaction de Dienst);

— grande sensibilité à la glycosurie phloridzique (Kamitzer et Joseph);

— coloration et floculation de Wisscher-Bowman dues aux prolans;

— recherche de l'œstriol (Patterson, Bierry, Gouzon).

2° Des réactions mettant en évidence les ferments de défense maternels :

— ferments protéolytiques : réaction d'Abderhalden à la ninhydrine (permettant d'éliminer la grossesse si elle est négative) et ses variantes;

— augmentation des ferments antitryptiques :

— méthode de Marcus;

— techniques de Roux et Savignac.

3° Des tests humoraux basés sur des modalités réactionnelles plus particulières à la femme enceinte :

— instillation de sérum dans le cul-de-sac conjonctival (test pupillaire de Bercowitz);

— intradermo-réaction aux prolans (Gruskin);

— modification de la sensibilité anaphylactique;

— injection d'urine (réaction de Nitto, réaction de La Vega);

— augmentation du pouvoir activant du sérum à l'égard du venin de cobra.

4° Tests hématologiques :

— augmentation du nombre des hématoblastes;

— augmentation de la vitesse de sédimentation des hématies (variation de l'haptoglobine : Alcieri-Falta);

— recherche des corps de Foa-Kurloff chez les cobayes nouveau-nés après injection d'urine (réaction de Babudieri);

— changement de couleur du mélange urine femme enceinte + globules rouges de mouton (réaction de Mlle Grimaldi).

5° Tests divers :

— pharmacologique de Lorrinczt : injection, d'ailleurs dangereuse, de post-hypophyse intraveineuse;

— histologique de Bertrand et Smith;
— réaction de Samuel (temps de réduction de l'oxy-hémoglobine);
— taux du soufre dans les phanères (Kossianoff), surtout dans les cheveux (réaction d'Alfanoseisky);
— effets du sérum de femme gravide sur la symphyse pubienne d'un cobaye préparé (test d'Abramson, Hurvitt et Lesnick);
— réaction de Kustalloo sur les infusoires.

*
* *

Ces déboires n'ont pas néanmoins lassé la patience des chercheurs, et de nouvelles méthodes sont nées, peut-être excellentes, mais qui devront résister, pour entrer dans la pratique, à la dure épreuve du temps.

1° *Test de Marcou* (1938), basé sur l'augmentation de l'histaminase sanguine (avec diminution du taux de l'histamine). Le dosage chimique donnerait une réponse à partir du dixième jour après la fécondation. Cette hyper-histaminasémie gravidique serait due à un mécanisme de défense contre l'hémorragie du post-partum (vaso-dilatation proportionnelle à l'histaminémie).

2° *Test de Soskin* ou diagnostic de non-grossesse à la prostigmine. Préconisé par Soskin en 1940, il a été repris en 1943 par Douglas et, en 1944, par Geisendorf et Grellet. On pratique, trois jours de suite, une injection quotidienne de 1 à 3 cm^3 de prostigmine Roche (parasympathicomimétique voisin de l'ésérine). En cas d'aménorrhée simple, on déclenche des pseudo-règles, et rien en cas de grossesse. En inhibant la cholinestérase, la prostigmine permet à l'acétylcholine du tissu utérin d'agir plus longuement et d'aboutir à l'hyperhémie de l'organe : effet diagnostic, psychique, thérapeutique.

3° *Test de Béclère* (1944) : Chez une femme dont la température au cours du cycle oestrien est connue, la persistance

d'une hyperthermie rectale dépassant 37° le matin, tous les jours pendant les vingt jours au moins qui suivent l'intermenstruum, constitue un signe de présomption de grossesse.

4° *Méthode de Stévenin et Lebreton* (1946) : Les auteurs ont repris la vieille question du pouvoir antitryptique du sérum découvert par Achalme et ont mis au point une nouvelle technique.

5° *Test chronaximétrique de Lecocq et Chauchard* (1946) : Les hormones perturbent la chronaxie du muscle utérin *in vivo* : progestérone, testostérone, hormones gonadotropes, sont dépressives, allongeant cette chronaxie. Après extériorisation d'une corne utérine d'un cobaye femelle non gravide, on détermine au « capachronaximètre » (capacité et chronaxie sont en effet proportionnelles l'une à l'autre, la chronaxie de base B, et la chronaxie de réaction R, résultant de l'imbibition pendant une minute de la corne utérine où est piquée la cathode, par l'humeur examinée.

B est fixe (en moyenne 100 microfarads), R varie au cours de la grossesse entre 500 et 2.000 microfarads ou davantage, selon une courbe semblable à celle des prolans. La folliculine, hormone antagoniste, doit être parfois annihilée.

6° *Papanicolaou* a fait connaître au début de 1948 un diagnostic de grossesse basé sur des critères cytologiques propres à l'urine de femme enceinte, après cathétérisme.

7° Mise en évidence d'une *hormone mélanotrope gravidique* grâce à certains réactifs animaux possesseurs de cellules pigmentaires douées de la propriété d'expansion et de rétraction.

a) Animaux entiers :

Poissons :

— érythrophorodilatation, d'après le test des érythrophores du vairon *Phoxinus laevis* de Zondek et Krohn (Mandelstamm, 1935);
— mélanophorodilatation;
— érythrophorodilatation et croissance du gonopode.

Il importe de se servir d'animaux impubères pour éliminer l'action du complexe hypophyso-pituitaire; mais les relations du poids, dont on tient compte, et de l'âge sont trop variables et mal précisées.

Batraciens :

— mélanophorodilatation (Collin, Drouet, Florentin).

b) Dilatation des pigmentophores isolés :

— écailles de cyprin *Carassius vulgaris* au contact d'un extrait acétonique (Binet, Verne, Mlle Luxembourg);

— peau de grenouille (Trendelenbourg, Dietel, Ehrardt, Jores, Galowski).

c) Animaux :

— décérébrés : grenouille (Sawko, Richter, 1944);

— hypophysectomisés. L'hypophysectomie, à condition d'être totale (Servantie et Moretti, 1947), supprime l'arc réflexe de la régulation mélano-phorique.

L'hormone mélanotrope agit spécifiquement sur les mélanophores (technique de Rives, 1947) et les résultats sont excellents.

*
* *

Beaucoup de ces réactions sont séduisantes, et parfois d'exécution assez facile, comme le test de Soskin. Néanmoins, elles diffèrent des réactions biologiques considérées à présent comme classiques et universellement éprouvées, en ce sens qu'elles ne font pas intervenir d'une façon exclusive l'action des hormones spécifiques de l'organisme maternel. La revue d'ensemble de ces techniques classiques et leur déterminisme nous retiendra un peu plus longuement.

Le diagnostic de la grossesse par la recherche des hormones spécifiques.

Les phénomènes périodiques qui marquent par leur caractère cyclique l'ère d'activité des organes génitaux femelles

sont sous la dépendance d'hormones aujourd'hui bien connues.

Ces hormones existent normalement en dehors de la grossesse, mais en si petite quantité que leur présence demeure indécelable par les réactifs biologiques. Néanmoins, elles suffisent pour assurer à l'organisme féminin son fonctionnement périodique régulier.

On en connaît trois qui paraissent régir le cycle génital :

a) La folliculine, ou plus exactement dihydrofolliculine ou œstradiol, issue des folliculines de de Graaf, s'éliminant sous forme d'œstrone dans l'urine, est l'hormone de la femme. Parfois, en quantités importantes en dehors de la grossesse (elle est par conséquent non spécifique), elle provoque au niveau des organes génitaux internes et externes les phénomènes de l'œstrus (Allen et Doisy), ce qui permet de la doser biologiquement (injection à des rats ou à des souris femelles castrées, ou mieux impubères).

1 U.I. = 1/10 unité-rat = 1 unité-souris = 0,1 γ d'œstrone.

Avant le troisième mois de la grossesse, il n'en existe que des traces dans l'urine. Son dosage est utilisé chez les équidés pour diagnostiquer l'état de gravidité.

b) La progestérone.

Ancienne lutéine, sécrétée par le corps progestatif (Rivière et Dubreuil), hormone de la mère, en quantités très faibles dans le cycle, est décelée par le test biologique classique de la « dentelle utérine » d'Ancel et Bouin (injection à des lapines adultes castrées — Allen et Corner — ou impubères non castrées préparées par la folliculine — Clauberg).

Un autre test très spécifique de l'hormone consiste à l'injecter au cobaye : lorsque l'animal est en fin de rut (Brouha), il se produit alors un relâchement très marqué de l'articulation de la symphyse pubienne, d'où une motilité en touche de piano facilement décelable à la palpation. Le fait qu'on doit posséder des cobayes en fin de cycle œstral a incité

Abramson, Hurwitt et Lesnick à l'obtenir expérimentalement par injection de folliculine pendant quatre-cinq jours. Le sérum de femme gravide aurait la propriété de provoquer ce relâchement symphysaire, d'où leur test.

1 U.I. = 1 unité-lapine Allen = 2 U.L. Clauberg = 1 mg progestérone.

Depuis quelque temps, l'étude chimique de cette hormone a marqué de grands progrès. En effet, parmi les hormones « stéroïdes » urinaires, dérivées du cholestérol, classées en trois grands groupes :

I : les « stéroïdes glycuronides » non cétoniques et non phénoliques;

II : les « 17 céto-stéroïdes », androgènes;

III : les « phénols-stéroïdes », ou pro-œstrogènes;

l'hormone la plus importante, du premier groupe, est le prégnandiol-glycuronidate de sodium, forme d'élimination urinaire de la progestérone. Venning et Browne essayèrent de la doser en 1937 grâce à son point de fusion (268-271°), méthode nécessitant des quantités importantes, propres seulement à la deuxième partie de la grossesse.

Puis, Astwood et Jones, en 1941, s'attachèrent à doser le prégnandiol libre; leur technique fut modifiée par Talbot (1941), puis par Guterman, qui, en 1944, espérait avoir trouvé une réaction colorée simple : elle s'avéra infidèle et seulement qualitative.

Jayle, Srepy et Libert, de 1943 à 1946, se sont efforcés d'éliminer les causes d'erreurs par défaut, et grâce au rapport :

$$\frac{\text{stéroïdes glycuronides totaux SGT}}{\text{prégnandiol-glycuronides PG}} = 1{,}5,$$

de prévoir même les menaces d'avortement lorsqu'il devient supérieur à 3 (d'où la thérapeutique par la progestérone), ou les phases pré-éclamptiques des toxémies gravidiques pendant lesquelles le prégnandiol diminue. Les taux de ces pro-

duits augmentent régulièrement au cours de la grossesse (courbe de Dreano) et s'effondrent après elle, comme en cas d'œuf mort ou après avortement.

La folliculine serait fabriquée par l'ovaire à partir des substances du groupe III de Jayle et Libert, donnant une réaction de Kober positive, pro-estrogènes formés par la cortico-surrénale. Au cours du cycle menstruel, il existe deux sommets d'élimination, tandis qu'au cours de la grossesse ces phénos-stéroïdes totaux augmentent fortement, mais régulièrement (200 à 10.500 γ d'œstrone).

c) Les hormones gonadotropes.

Encore appelées gonadotrophines, mitosines ou prolans, selon les auteurs et parfois les conceptions. Elles devaient donner la clé du diagnostic de la grossesse.

Un demi-siècle d'observations cliniques et une vingtaine d'années de recherches expérimentales ont placé le complexe hypophyso-pituitaire au sommet des régulations endocriniennes comme organe principal de coordination et de stimulation. Les dix dernières années ont introduit la notion du complexe hypothalamo-pituitaire, en faisant sa place au rôle du système nerveux.

Vis-à-vis de la fonction génitale, l'antéhypophyse joue un rôle directeur de tout premier plan, mis en évidence pour la première fois de façon irréfutable par les expériences d'Evans et Long en 1921 en ce qui concerne l'ovaire, de Smith et Engle en 1927 en ce qui concerne l'hormone génitale mâle et le testicule.

Les effets d'ablation totale ou partielle de la pituitaire chez les nombreux animaux soumis aux expériences, les effets des implantations (greffes d'origines très diverses souvent), des transplantations, des injections d'extraits glandulaires, ont montré l'étroite dépendance des gonades mâles ou femelles. L'expérimentation portant sur des animaux à tous les âges, impubères ou adultes, mâles ou femelles (ces femelles étant aussi en état de gravidité ou de lactation), a

permis de préciser les modalités d'action de la pituitaire. Enfin, l'étude des anencéphales naturels prouve l'entrée en jeu assez tardive de l'interréaction génito-pituitaire.

On a donc pu mettre en évidence des gonadotrophines. Selon leur mode d'extraction et leur provenance, on est parvenu à isoler des produits dont l'effet, sur l'ovaire des rongeurs en particulier, serait caractéristique et permettrait leur individualisation.

Deux conceptions d'ailleurs s'affrontent : celle de la pluralité des hormones gonadotropes, émise par Aschheim et Zondek, vérifiée par Fewold, Hishaw, Léonard qui retrouvèrent ces principes dans la pituitaire, et complétée par les travaux d'Evans en 1932, de Brindeau, M. et H. Hinglais en 1934, qui pensèrent à l'existence d'un troisième facteur, seul vraiment spécifique de la pituitaire, de telle sorte que la succession des effets biologiques se ferait de la manière suivante :

1° gonadostimuline A, ou « follicle reepening hormon, FRH », ou « follicle stimulating hormon, FSH » des auteurs américains, entraînant, selon la maturation folliculaire, un effet « acmogène » (quelques follicules) ou « auxogène » (très nombreux follicules) selon la terminologie de Guyenot;

2° gonadostimuline C, sensibilisant le follicule mûr;

3° gonadostimuline B, ou « luteinizing hormon, LH » des auteurs américains, entraînant la lutéinisation du follicule sensibilisé, qui devient, grâce à cet effet « crinogène », un corps progestatif.

Dans la théorie uniciste, à une seule sécrétion d'hormone gonadotrope correspondraient les effets rapportés ci-dessus, par le fait d'une concentration variable du principe actif en jeu.

Mais les dualistes sont allés plus loin et leur interprétation des phénomènes est bien séduisante. Les deux principes sont sécrétés simultanément par l'antéhypophyse, probablement au niveau de formations cellulaires différentes, acti-

vées ou inhibées périodiquement par des phénomènes de corrélation réciproque, de nature hémocrine, entre ovaire et pituitaire. En effet, la greffe portale de l'ovaire entraîne une inactivation immédiate de sa sécrétion par les cellules hépatiques : pituitaire et tractus génital se comportent désormais en éléments typiques de castrats, malgré la présence dans l'organisme d'un ovaire fonctionnel, lequel reste en permanence à la phase folliculaire et ne présente que des phénomènes de lutéinisation anormaux.

Le cycle peut s'expliquer ainsi : la pituitaire sécrète abondamment un facteur F.S.H., auxogène, qui entraîne le développement physiologique des follicules arrivés au degré sensible de leur évolution; d'où une sécrétion de plus en plus forte d'œstradiol, qui, agissant sur la pituitaire, inhibe progressivement la sécrétion du facteur F.S.H. et libère la sécrétion du principe crinogène L.H. A partir de ce moment-là, la sécrétion du facteur F.S.H. diminue rapidement et cet abaissement, parallèle à l'élévation du taux de L.H., entraîne une variation du rapport FSH/LH, qui passe par une valeur critique, bref état intermédiaire correspondant à la rupture folliculaire (ovulation) suivie immédiatement de la transformation lutéinique complète des restes du follicule rompu, qui deviennent le corps progestatif. La lutéine, sécrétée à son tour, tend à inhiber la sécrétion du facteur L.H. et à libérer de nouveau la sécrétion du facteur F.S.H. Le corps progestatif dégénère en corps jaune, et le cycle recommence. Ce brusque déséquilibre hormonal est d'ailleurs un phénomène plus général : ne le retrouve-t-on pas à la fin de cet autre cycle génital de longue durée que constitue la gravidité ?

Cette théorie de l'équilibre hormonal est étayée par les examens histologiques. Au niveau de la pituitaire, les différentes phases du cycle œstrien sont marquées par des transformations importantes du cycle sécrétoire entre la phase folliculaire et la phase lutéinique. Les affinités tinctoriales changent entre les deux états, et l'on peut rendre certaines

cellules plus particulièrement responsables des différentes sécrétions de gonadostimulines. Certains adénomes basophiles ou éosinophiles bien individualisés, et entraînant certains syndromes cliniques caractérisés, permettent d'établir une relation de cause à effet.

D'ailleurs, la preuve expérimentale d'une modification histologique de la pituitaire a été donnée par Hohlweg et Dohrn, Bachner en 1933, après injection d'œstrogènes, et par Hohlweg et Dohrn, et Chaupper en 1934, après injection de progestérone.

A côté de cette origine purement glandulaire des « gonadotrophines », il existe aussi d'autres sources de facteurs gonadotropes, plus particulièrement dans l'urine de femme castrée ou ménopausée, dans le sérum de jument gravide, dans l'urine, le sang ou d'autres humeurs de la femme enceinte.

Ces hormones, dont les effets sont en tout point comparables à l'une ou l'autre des gonadotrophines, peuvent-elles être assimilées à ces dernières ? Les uns ont prétendu qu'il s'agissait des mêmes principes, les autres les ont individualisées. Les auteurs américains qui n'affirment rien sans preuves catégoriques, se contentent de les étiqueter provisoirement, selon leur origine, et admettent un facteur « C.U. (Castrate Urine) », un facteur « P.M.S. (Pregnant Mare Serum) », un facteur « P.U. (Pregnancy Urine) » (Allen, Danforth et Doisy, 1939). Toutefois, Hamburger, constatant que les facteurs P.U. et P.M.S., tout en étant qualitativement différents, ont la propriété commune de n'apparaître que s'il y a du tissu chorial vivant, et présentent en outre des réactions biologiques semblables, a appelé ces deux substances « hormones choriales ».

Ces hormones ne seraient-elles pas d'origine antéhypophysaire ?

L'étude de l'action des urines de castrat, et surtout de l'urine de femme ovariectomisée, est instructive. Fluhmann et Zondek, en 1929, Hamburger, en 1933, signalèrent les par-

ticularités du facteur « C.U. », Tyndale et Levin, en 1936, entrevirent le rôle de la pituitaire surajoutant dans certains cas sa propre activité à celle de ce principe, dans la production anormale de corps progestatifs chez les rongeurs. En effet, la rate impubère hypophysectomisée ne réagit plus que par des phénomènes de *maturation folliculaire* à des doses d'extraits suffisamment faibles. Depuis, une technique améliorée a montré, quelles que soient les doses et les fréquences des injections, une réaction toujours la même, maturation folliculaire *ne donnant jamais lieu à formation de corps jaune;* ceci à la condition d'avoir des témoins valables, c'est-à-dire qu'ils aient été judicieusement choisis, que la pituitaire autochtone ne vienne pas perturber l'expérience par une réaction propre. Le facteur C.U. est donc une « gonadotrophine A » sécrétée en abondance en l'absence d'ovaire, car il ressort des expériences de parabiose que l'ovaire joue un rôle frénateur par la folliculine qu'elle sécrète sur le fonctionnement de la pituitaire (Hinglais).

Cette hyperprolanurie des castrées correspond à la deuxième phase clinique, « hyperprolanique » des ménopausiques. L'étude de ces urines a donné des résultats analogues : les principes, auxogènes, en sont de nature antéhypophysaire. La suppression de la pituitaire entraîne leur rapide disparition. D'autre part, la structure histologique de la pituitaire des castrats, comme des femmes ménopausiques, présente des particularités qui sont spécifiques de cet état, et sans doute en relation avec l'hyperactivité sécrétoire auxogène.

Or, ce rapprochement soulève un nouveau problème. Pourquoi parler de prolans, ce torrent d'hormones que l'état de grossesse déverse dans l'économie de la femme enceinte, ou facteur P.U. des auteurs américains ? Pourquoi faire intervenir le placenta dans cette aménorrhée physiologique hyperhormonale que constitue l'état de grossesse ? Pourquoi ne pas attribuer leur production, comme le fit Zondek qui pourtant les nomma, à la glande pituitaire : celle-ci ne présente-t-elle pas, très précocement, une « réaction gravidique »

caractérisée par une augmentation de volume et de poids, une vasodilatation intense, et l'apparition de cellules de grande taille, dites cellules de grossesse d'Erdheim et Stumme, apparition que l'on peut provoquer chez un animal par simple implantation placentaire ? Ne lui doit-on pas la seule façon d'expliquer la persistance en forte quantité des prolans dans l'urine pendant les jours qui suivent l'évacuation complète d'une môle hydatiforme ? Ne sécrète-t-elle pas encore l'hormone mélanotrope ou intermédine que l'on dit être chez la femme spécifique de l'état de grossesse (Rives) ? Et si ces substances urinaires diffèrent par quelques détails des hormones antéhypophysaires, ne peut-on en rendre le filtre rénal responsable qui, par exemple, transforme la progestérone en prégnandiol ?

Mais la question est bien près d'être définitivement tranchée, car les tenants de l'origine choriale de ces hormones apportent de solides arguments. S'il existe des urines dans lesquelles on peut recueillir ou mettre en évidence des principes d'origine antéhypophysaire, les urines de femme enceinte renferment indibutablement des principes gonadotropes de nature différente, présentant les deux actions auxogène et crinogène. Leur existence est à la base des différents tests biologiques de grossesse actuellement employés.

Ces principes méritent donc bien, s'ils existent, le nom de « prolans » (Astwood et Greep les appellent « cyonines »), afin de les différencier des hormones provenant de la pituitaire. S'ils sont encore dits « gonadotropes », ce n'est que par analogie avec la gonadotrophine et cela veut dire « ayant une action sur l'ovaire ». Car il faut tenir compte du fait que dans la physiologie normale, les sécrétions placentaires peuvent agir de deux façons : soit directement sur l'ovaire, soit par l'intermédiaire du complexe hypophyso-pituitaire *in situ*.

Le placenta sécrète-t-il bien de telles hormones ? Observations et expériences tendent à le démontrer.

a) Observations : L'hormone gonadotrope a été trouvée dans le placenta à toutes les périodes de la grossesse (Zon-

dek, 1931; Philipp, 1932), et dans l'ovule fécondé âgé seulement de deux ou trois semaines (Von Maraudis, 1933). Elle continue à être sécrétée tant que des fragments placentaires restent en place après avortement ou accouchement prématuré. Elle est excrétée en abondante quantité en cas de chorioépithéliome — production indépendante du tractus génital et de son degré de maturité (cas de Siegmund chez une enfant de 6 ans; cas de chorioépithéliomes testiculaires).

b) Expériences : Celles qui tendent à démontrer que le placenta sécrète bien ses prolans sont nombreuses. Hirose, en 1919, rapportait déjà les effets des implantations placentaires sur les ovaires et l'utérus des lapines. Après lui, Aschheim et Zondek, Philipp et bien d'autres, utilisèrent cette technique. Par des implantations de placenta et de caduque à la souris, Philipp et Huber (1936) concluent que le placenta ne peut prélever l'hormone dans le torrent circulatoire et forme donc bien lesdites substances.

Kido, en 1937, a greffé des villosités choriales dans la chambre antérieure de l'œil du lapin : les ovaires réagissent comme dans le test de Friedmann, et les urines de l'animal entraînent encore un test positif chez un autre lapin. La greffe intramusculaire, ou l'injection intraveineuse d'un extrait de tissu implanté, demeure sans résultat. Mais la faculté de résorption ultra-rapide du milieu oculaire doit intervenir. Les greffes d'hypophyse de grossesse chez les mêmes animaux se sont révélées également inactives; et l'ablation de l'hypophyse chez certaines espèces n'est-elle pas compatible, pratiquée assez tardivement, avec une bonne gestation... tandis que les prolans demeurent présents ?

La technique des cultures pures de placenta, en montrant le passage des prolans dans le milieu de culture, doit trancher le différend (Seegar et Gey, 1940).

Quoi qu'il en soit, il est aujourd'hui démontré que les principes gonadotropes de l'urine de femme enceinte sont d'origine placentaire et non antéhypophysaire (J. Vivien). Le pla-

centa, cette glande à tout faire, est entre autres un organe sécrétoire important dans la physiologie de la gestation, et, comme la pituitaire, il sécrète deux principes auxogène et crinogène..., dualité qui, elle aussi, a été discutée.

En effet, le « P. U. » ne peut pas s'identifier aux gonadotrophiques. Chez des femelles normales, comme chez des femelles immatures hypophyséoprives de rongeurs, l'injection de principe gonadotrope de l'urine de femme castrée, d'extrait auxogène purifié, ou l'implantation de pituitaire fraîche, entraîne la croissance de nombreux follicules, dont aucun n'atteint en général la maturité, ce qui prouve l'action directe des principes auxogènes de nature antéhypophysaire. Tandis que le « P. U. », s'il peut provoquer à très faible dose une maturation complète de quelques follicules qui évoluent normalement ensuite chez les femelles immatures intactes, ne donne plus rien chez les femelles hypophyséoprives. On a donc supprimé un maillon dans la chaîne des réactions, un stimulus indirect qui s'exerce par l'intermédiaire du complexe hypophysopituitaire *in situ*, laquelle, d'après Severinghaus (1934), agirait en sécrétant les gonadostimulines.

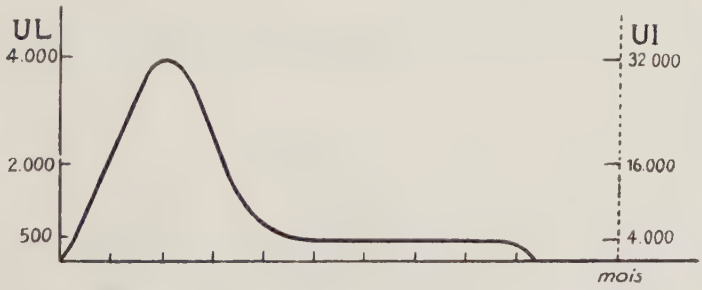
En est-il de même pour le facteur « P. M. S. » du sérum de jugement gravide, qui se comporte, selon les animaux auxquels on l'injecte, comme un facteur « P. U. » ou un facteur « C. U » ? L'âge des animaux a d'ailleurs une grande importance, et la souris prépubère ou impubère répond différemment. Les expériences en cours diront s'il s'agit de l'un ou de l'autre, ou d'un mélange des deux, ou d'un facteur nouveau.

En résumé, la tendance actuelle est d'attribuer à la glande pituitaire et au placenta, chez la femme en cours de grossesse, des activités parallèles, mais non identiques..., la seule réaction commune étant la propriété gonadostimulante.

C'est cette propriété qui sera mesurée grâce à l'emploi d'animaux-tests spécifiques d'un groupe d'hormones ou d'une seule hormone. Divers auteurs ont ainsi établi, grâce à la possibilité de dosages quantitatifs, des courbes d'élimination de

l'hormone gonadotrope durant la grossesse chez la femme et chez la jument. Elles sont utiles à considérer, d'autant que les animaux réactifs employés (et par conséquent les unités) n'étant pas les mêmes, ne permettent pas de vue d'ensemble comparative. De plus, la multiplication des mesures tout au long de la grossesse a permis de préciser l'allure générale de l'élimination hormonale en cours de gestation.

Les premières courbes que nous avons retrouvées montrent une phase d'ascension rapide, un plateau incliné insensiblement vers le bas jusqu'au terme, une phase de disparition rapide après l'accouchement. Tandis que des recherches plus modernes ont montré une phase de concentration rapidement croissante atteignant son maximum vers le trente-cinquième jour après la conception (dans le sang comme dans l'urine des femmes, d'après Evans, Kohls et Wonder), un peu plus tôt selon Siegler et Fein, au cours du deuxième mois selon Smith et Van S. Smith, un peu plus tard si l'on se rapporte à la courbe de R. Henry.



Elimination urinaire hormonale au cours de la grossesse.
(D'après R. Henry.)

A l'heure actuelle (selon Cheymol) :
1 U. I. = 1/8 U. L. = 1/2 U. Souris = 1/10 — 1 U. Rate
= 0,1 mg. de l'étalon international (1939).

La concentration en prolans pendant cette période d' « acmé » serait considérable (disposition éminemment favorable par conséquent pour le diagnostic précoce de la grossesse), 50 fois supérieure et même plus pour certains à ce qu'elle devient ensuite, dès la fin du deuxième mois selon

Evans, dès la fin du quatrième mois selon R. Henry (sa courbe a un maximum d'élimination un peu bas par rapport à celui des autres). On n'a pas été sans remarquer d'ailleurs l'activité de la couche de Langhans pendant la même période, activité qui demeure considérable en cas de môle hydatiforme. Chez la jument, on trouverait un clocher comparable, mais plus tardif et plus étalé, ce qui ne saurait étonner, puisque la période de gestation est ici plus longue (Cole et Saunders, 1935).

Il ne nous a pas semblé inutile de rappeler ces données avant d'entreprendre l'étude de l'action des mêmes prolans sur l'appareil génital des batraciens. Mais, auparavant, nous allons faire un rappel des divers tests biologiques de grossesse utilisés jusqu'à ce jour.

Les différents tests biologiques classiques utilisés jusqu'à ce jour.

Trois dates méritent d'être évoquées dans ce paragraphe, marquées par trois découvertes et par trois noms, à qui nous devons toutes les techniques modernes actuellement employées.

A. — Les rongeurs.

I. — Zondek, *en* 1927, montre, en collaboration avec Aschheim et en même temps que Smith et Engle, les réactions ovariennes des souriceaux femelles impubères aux injections d'hormones antéhypophysaires gonadotropes. Réactions de trois ordres : la gonadotrophine A provoque l'agrandissement des follicules (réaction I); la gonadotrophine B provoque successivement la formation des follicules hémorragiques (réaction II), et leur transformation en corps jaunes avec ou sans œufs inclus (réaction III).

Puis ils montrent que le sérum et les urines de grossesse renferment les mêmes principes, mais que seul le prolan B est caractéristique du développement du chorion.

D'où le test d'Aschheim-Zondek actuel, consistant à injecter à 5 souris impubères (c'est-à-dire âgées de 3 semaines seulement ou ne pesant que 7 à 8 grammes) des doses sous-cutanées croissantes de 1,2 à 2,4 cm³ d'urine en 6 injections réparties sur quarante-huit heures.

Lecture est faite :

— A partir du troisième jour sur les frottis vaginaux :

Réaction + si :

disparition des leucocytes,

apparition des cellules kératinisées,

par action directe du prolan sur l'ovaire et production de folliculine;

— A partir de la quatre-vingt-seizième ou centième heure, avec sacrifice de l'animal et examen macroscopique des ovaires à la loupe :

Réaction + si :

présence de follicules hémorragiques (1 à 10 et plus sur un ovaire),

présence de faux corps jaunes (tâches jaunes).

La congestion des trompes et de l'utérus n'est pas à elle seule spécifique.

Inconvénients : Nécessité fréquente de coupes histologiques pour vérifier la présence d'un élément caractéristique intra-parenchymateux.

II. — Fels, *en* 1928, est le premier à découvrir les effets des hormones gonadotropes sur l'appareil génital du souriceau mâle impubère; il y a augmentation pondérale, non seulement du testicule, mais aussi et surtout des glandes accessoires, glandes vésiculaires ou vésicules séminales selon les auteurs, cette réaction pouvant encore être caractérisée chez l'animal adulte (Brouha et Simonnet). Ce fait, ajouté au fait que le prolan B est le seul efficace (prolan A et folliculine sont inactifs), rend la méthode excessivement précise (99 p. 100 de résultats exacts).

La technique a été mise au point par Brouha, Hinglais et Simonnet en 1930. On injecte 4 souriceaux de 4 semaines ou pesant 8 à 15 grammes, et on garde 1 témoin.

2 reçoivent deux injections sous-cutanées de 0,3 cm^3 d'urine par jour pendant quatre jours;

2 reçoivent une injection sous-cutanée de 0,3 cm^3 d'urine par jour pendant huit jours.

Le témoin et les deux premiers souriceaux sont sacrifiés le cinquième jour.

Les deux derniers sont sacrifiés le dixième jour.

Réaction + : Testicules gros, abaissés; surtout vésicules séminales très hypertrophiées, en cornes de bélier, pleines de liquide blanchâtre, occupant une partie de la cavité abdominale, décuplées de poids (20 à 60 mmg.).

Règle. — A quatre semaines :

si le poids des vésicules séminales ne dépasse jamais le poids du corps : réaction —;

si le poids des vésicules séminales est double ou triple de celles du témoin au cinquième jour, quintuple ou décuple au dixième jour (Hinglais) : réaction +.

III. — Friedmann, *en* 1929, montre que la lapine vierge ou même adulte séparée du mâle, « puisque à ovulation provoquée uniquement par le coït » (elle a des follicules toujours prêts à être fécondés), réagit elle aussi aux injections d'urine de femme enceinte.

Le test de Friedmann-Adèle Brouha en dérive (1931). L'animal préconisé était la lapine vierge de 3 mois et l'injection se faisait intrapéritonéale.

La technique actuelle diffère selon les auteurs. La tendance est de pratiquer des injections assez faibles intraveineuses de sérum ou d'urine sur de jeunes femelles adultes, vierges ou non, de 2 kilos environ, séparées depuis un mois du mâle (durée de la gestation) et même des autres femelles, des excitations fortuites suffisant parfois à déclencher l'ovulation (Bachrach, 1933).

Cet écueil sera tourné grâce à la laparotomie exploratrice abdominale ou lombaire, ou même l'examen endoscopique (Suchet), suivie de l'injection intraveineuse de sérum (2-3 cm³) ou d'urine du matin (5-7 cm³). Hinglais (1947) recommande d'injecter deux lapines, l'une recevant 5 cm³ d'urine, l'autre 10 cm³.

Examen après quarante-huit heures : la réaction est + à partir de la constatation d'un follicule hémorragique sur un au moins des deux ovaires. L'ovaire peut, en outre, être congestionné, quadruplé de volume, comportant jusqu'à 20 follicules hémorragiques (cette faculté de compter les follicules permet le dosage). La congestion du tractus génital, une légère réaction péritonéale, ne sont pas spécifiques (intervention possible de la folliculine).

C'est une réaction simple et rapide, très satisfaisante (97 p. 100 de résultats exacts), mais il importe de bien choisir les animaux qui doivent avoir atteint au moins le stade de prématurité sexuelle pour que l'ovaire soit sensible aux injections d'hormones gonadotropes. Les animaux peuvent être réutilisés après un mois si réponse négative, deux mois d'isolement si réponse positive (les follicules hémorragiques pouvant persister assez longtemps : jusqu'à cinq semaines selon Delaville); il y a néanmoins une limite qu'on doit maintenir assez basse — deux-trois fois pour Cheymol — car la nature polypeptidique de ces hormones serait susceptible d'entraîner à la longue la formation d'anti-hormones, surtout si les quantités injectées sont importantes (Bunard et Grabar, 1947... : ces auteurs mettraient au point une technique de floculation permettant le diagnostic de grossesse grâce à un sérum de lapin antigonadotrope).

Il importe également de ménager les lapines au moment de l'injection grâce à de faibles quantités de sérum, suffisantes dans les cas habituels, que l'on fractionnera en deux-trois doses injectées toutes les heures. Dans les cas douteux (œuf mort, etc.), l'urine, moins dangereuse, sera utilisée. Sang et urine seront placés dès que possible à la glacière,

l'urine étant additionnée de 10 p. 100 de toluène comme antiseptique.

La réaction à la lapine est d'autant plus intéressante qu'elle permet un dosage quantitatif, l'unité-lapine étant l'exacte dose d'hormone nécessaire et suffisante pour faire apparaître, en quarante-huit heures, un point hémorragique sur un au moins des deux ovaires, chez une lapine de 2 kilos environ, âgée de 3 mois au moins.

Le test à la lapine, étant le plus pratique et le plus utilisé, devait être logiquement très perfectionné. On a pu utiliser des lapines gestantes, ou en post-partum (Martins et Fabio, 1930), et May n'a-t-il pas, en 1944, réalisé la greffe de l'ovaire de lapine dans la chambre antérieure de l'œil, « visualisant » en quelque sorte le test de Friedmann ?

IV. — Parallèlement à ces trois techniques classiques, des *variantes* ont été proposées, tendant à augmenter la rapidité ou la fidélité des réactions.

1° *Méthode simplifiée d'Aschheim* (1946) : Consiste à provoquer l'œstrus chez 2 rates impubères de 4 à 5 semaines ou pesant 25 à 35 grammes, par une seule injection de 0,5 cm³ d'urine du matin. On peut remplacer l'urine par du sérum pur ou dilué de moitié. On recherche les cellules kératinisées sur frottis vaginal 72, 84, 96 heures plus tard.

Les animaux sont ainsi épargnés, mais le test risque d'être faussé par une puberté précoce de l'animal choisi un peu trop à la limite; ce qui le rend sensible à la folliculine d'origine intrinsèque ou même thérapeutique.

2° *Technique de Probstner-Bourg* (1931) : Dérive des réactions d'Aschheim-Zondek et de Fels, appliquée au rat impubère. A 2 rats de la même nichée, l'un mâle et l'autre femelle, âgés de 1 mois ou pesant 28 à 40 grammes, on injecte 1 cm³ d'urine. L'examen des organes génitaux a lieu le cinquième jour .

3° *Réaction de Reiprich* (1933), ou test de l'hyperhémie ovarienne, peu connu en France : Il est basé sur l'action

vasodilatatrice des hormones gonadotropes sur l'ovaire, phénomène très précoce dans la série des tests ovariens, puisque l'afflux de sang permet l'augmentation des métabolismes. Signalé par Aschheim-Zondek en 1927, expérimenté par Reiprich en 1933, il fut étudié par Salmon et Geist (auxquels on l'attribue parfois), par Zondek en 1945 et en 1947, et en France par Aschheim et Varangot en 1945 et Hinglais en 1947.

On se sert de la rate impubère (cf. test simplifié d'Aschheim), car ses ovaires sont anémiques et, en conséquence, blancs. Trois jeunes rates de 3 à 4 semaines et pesant 20 à 25 grammes reçoivent 4 cm³ maximum d'urine ou de sérum en injection sous-cutanée (2 cm³ de chaque côté du dos), quantité à ne pas dépasser, l'hormone antéhypophysaire étant aussi active. On asphyxie les animaux pour ne pas les saigner, l'un après 10 heures, l'autre après 24 heures. On examine les ovaires encore chauds :

— en place,

— disséqués,

— ou écrasés entre deux lames de verre, coloration rouge, nette, brillante si réaction +.

Excellent test en cas de grossesse normale seulement.

Zondek a suivi ce test après 2 heures, 6 heures, 18 heures et 24 heures.

— Test de 2 heures : grevé de plus de 30 p. 100 d'erreurs, donc mauvais. Positif avec les urines recueillies au milieu du cycle menstruel (diagnostic de l'ovulation d'après Farris), ou aussi après un coït, etc.

— Test de 6 heures : dit aussi test de Salmon et Geist (1943) et étudié par Kaminester (1944), qui précise la technique; 3,7 p. 100 d'erreurs, ne permet pas de conclure s'il est négatif.

— Test de 10 heures : le plus sensible.

— Test de 24 heures : 1 p. 100 d'erreurs, dû à des myomes ou à des corps progestatifs persistants qui sont dans tous les cas des causes d'hyperhémie.

B. — Les batraciens.

Une ère nouvelle dans le diagnostic biologique de la grossesse a commencé depuis que l'on a songé à utiliser le batracien mâle comme réactif spécifique de l'hormone gravidique.

I. — A vrai dire, dès 1930, le zoologiste L. T. Hogben publiait « le test *Xenopus* », ou test Hogben, ou bufo-réaction : chez le crapaud armé d'Afrique du Sud, *Xenopus laevis*, animal aquatique à griffes, la femelle porte toute l'année des œufs dans son tractus génital. Elle les expulse après accouplement, tout comme la lapine ovule après le coït : Hogben, remplaçant le mâle par une injection d'hormone gonadotrope réalisa une ponte expérimentale.

Shapiro et Zwarenstein, en 1934; Bellerby, en 1934, ont étudié ce test, ainsi que le firent à Londres : Elkan (1938-1939), Milton, Wattenwyl, Crew, tandis que Landgrebe précisait la technique de conservation soi-disant assez délicate de l'animal, et préconisait (1944) d'injecter une grosse quantité d'urine concentrée (ce qui explique peut-être, étant donné l'extrême sensibilité des animaux aux hormones antéhypophysaires, les fausses réponses positives chez les femmes castrées et surtout ménopausées [Cheymol]).

La technique a été perfectionnée par les Américains Weisman et Coates : injection à 2 ou 3 animaux de 2 cm³ d'urine (d = 1015 minimum; sinon faire un extrait ou injecter 1 cm³ de sérum) dans le sac lymphatique dorsal. Certains testent auparavant l'animal avec 100 unités de prolans, qui doivent entraîner une ponte totale : l'animal reforme ses œufs en trois semaines de repos. On met en place chaque femelle dans un bocal rempli d'eau au tiers, sur une plate-forme située à mi-hauteur et perforée pour éviter que le crapaud ne mange ses œufs. La température optima est de 24°.

Au bout de six-huit heures, l'animal pond de 5-6 à 40-50 œufs qu'on peut compter leur nombre étant proportionnel à la quantité d'hormones. On recommande de faire

l'injection le soir en réservant la lecture pour le lendemain matin, car l'obscurité est un facteur favorisant.

L'animal, après un mois de repos (test positif) ou une semaine (test négatif) peut resservir. Soit 10 fois par an environ... et le crapaud vit plus de douze ans en laboratoire.

Sur 3.000 tests, on signale 99 à 100 de résultats exacts. Zwarenstein et Duncan (1944) ont appliqué la méthode au diagnostic des môles et chorioépithéliomes, Meiring et Zwarenstein au diagnostic des tumeurs testiculaires.

Avantages :

— Pas de diagnostic histologique nécessaire;
— Pas de sacrifice de l'animal.

II. — Ce n'est qu'en mars 1947 que, simultanément, Galli-Mainini à Buenos-Ayres, et Robbins, Parker et Bianco à Boston, ont publié leurs premiers résultats de l'utilisation du crapaud mâle comme dernier test de diagnostic de grossesse.

A. — Les auteurs nord-américains ont tout simplement utilisé le mâle du *Xenopus lævis* cité précédemment. Se basant sur le fait que les anciens auteurs provoquaient, grâce à l'injection d'hormones gonadotropes, le réflexe d'accouplement chez les mâles, ce qui permettait d'obtenir des femelles des œufs fécondés (Shapiro, 1936) et d'accroître les élevages, ils pensèrent que c'était aussi un moyen d'obtenir des spermatozoïdes et en firent un procédé diagnostic des dites hormones.

Les auteurs pratiquent aussi l'injection sous-cutanée dorsale; dans les deux-trois heures qui suivent, ils font un prélèvement cloacal externe à l'aide d'une pipette, le crapaud émettant toujours suffisamment de liquide si le test est positif. A l'objectif 7, ils examinent ce liquide entre lame et lamelle et tiennent compte de la présence de plusieurs spermatozoïdes mobiles dans le champ (des spermatozoïdes immobiles ou 1 à 4 spermatozoïdes mobiles par champ pouvant, quoique rarement, se rencontrer chez les crapauds même non injectés).

La réaction devient positive, soit brusquement, soit en général progressivement, une demi-heure à deux heures après l'injection d'hormone, et atteint son maximum en deux-trois heures. Dans les cas de faible positivité, les spermatozoïdes commencent à disparaître dans les trois-six heures qui suivent leur apparition initiale; et, dans les cas à la limite, les spermatozoïdes peuvent n'apparaître qu'après une durée d'au moins deux ou trois heures, d'où la nécessité de prélèvements périodiques renouvelés, espacés d'une heure ou d'une heure et demie. Si les examens ne donnent rien après quatre-cinq heures, on peut assurer sans crainte que le test est négatif. Dans les cas de forte positivité, l'expulsion de spermatozoïdes dure pendant douze à vingt heures.

L'animal est réutilisable à plusieurs reprises après un repos de sept jours, ou de trois ou quatre jours seulement si le test a été négatif.

Les auteurs ont titré, selon le protocole classique, les gonadotrophines extraites de la pituitaire du mouton et les prolans urinaires sur le crapaud mâle, le crapaud femelle et la rate impubère.

Vis-à-vis des gonadotrophines :

1 RU = 2 UX femelle = 128 UX mâle;
1 RU = 1/5 UX femelle = 2 UX mâle,

ce qui prouve que si le crapaud mâle réagit fortement aux gonadotrophines, il n'est guère plus sensible que la rate aux prolans. Ce fait explique peut-être, du moins pour la femelle, que le test soit peu sensible et inutilisable avant la septième semaine de la grossesse; Joël, qui rapporte ces faits, affirme en outre qu'il est 12 à 15 fois moins sensible que la réaction d'Aschheim-Zondek (1946).

B. — Concurremment, Galli-Mainini, en Amérique du Sud, expérimentait sur un crapaud géant, très répandu dans ces pays : le *Bufo arenarum* Hensel. Sa technique était similaire, l'injection de 10 cm^3 étant plus forte, puisque le crapaud est plus gros. La lecture du test se fait en principe dans les

mêmes conditions. L'obscurité et la chaleur favorisent la réaction; le froid et la lumière gênent.

Les résultats seraient excellents et le diagnostic très précoce, même avant tout retard (de Gennes). Il y aurait des causes d'erreur comparables à celles que l'on rencontre dans le test de Friedman.

Mello, reprenant l'expérimentation, vient de confirmer à Rio de Janeiro ces résultats.

C. — Tout récemment, puisque le 11 juin 1948 paraissait dans un numéro de *Science* un article de Wiltberger et Miller, un troisième batracien mâle venait d'être soumis à l'expérimentation. Il s'agit d'un autre Anoure commun en Amérique du Nord, *Rana pipiens*, — dit aussi grenouille taureau, ou grenouille léopard, ou encore grenouille mugissante à cause de son cri —, auquel les auteurs ont injecté 5 cm^3 d'urine du matin dans les sacs lymphatiques dorsaux ou latéraux. Chaque test se fait avec 2 animaux au moins, chacun étant placé après l'injection dans un récipient de verre « clair et sec », muni d'un couvercle perforé, à la température ambiante. Les spermatozoïdes sont alors recherchés dans l'urine du bocal, ou émise par pression manuelle du batracien, si le premier liquide ne contient pas de spermatozoïdes.

Les animaux peuvent être réutilisés.

D. — Enfin, dans une récente publication à la Société de Biologie de Bordeaux, M. L. Servantie et nous-même avons rapporté que les mêmes principes pouvaient tout aussi bien s'appliquer aux batraciens ordinaires de nos régions, c'est-à-dire aux mâles du *Bufo vulgaris* et de la grenouille verte *Rana esculenta*.

L'étude plus détaillée de ces phénomènes fera l'objet de notre travail.

E. — Nous venons de prendre tout récemment connaissance de deux communications de H. et M. Hinglais à l'Académie des Sciences et à la Société de Biologie de Paris, faites en avril 1948. Les auteurs, injectant « des extraits alcalins d'hy-

pophyse de bœuf » et des hormones gravidiques à *Bufo vulgaris*, *Bufo calamita*, *Rana temporaria* et *Rana esculenta*, obtiennent « un détachement des spermatozoïdes et leur migration dans les conduits uro-génitaux ».

La réaction se fait avec 3 cm^3 d'urine et se lit après une à trois heures.

D'un point de vue quantitatif, le crapaud paraît un réactif plus régulier que la grenouille, dont les testicules sont sujets à de fréquentes affections parasitaires qui troublent la spermatogénèse.

F. — Gallien aurait aussi fait une communication sur le même sujet à la Société de Biologie de Paris le 4 juillet 1948.

CHAPITRE II

BIOLOGIE DU TESTICULE

L'activité testiculaire relève d'une double fonction : l'élaboration de spermatozoïdes d'une part et la production d'une sécrétion interne d'autre part.

La sécrétion interne, hormonale, est un phénomène très général, mais elle devient d'autant plus importante que l'appareil reproducteur mâle est plus évolué.

L'élaboration spermatique est soumise en règle générale à une évolution périodique, sauf chez les primates et chez de nombreux animaux domestiques ou semi-domestiques, où elle est continue.

Chez beaucoup d'invertébrés et chez quelques vertébrés, les spermatozoïdes s'échappent du testicule dans le milieu ambiant au travers de simples tubes et rencontrent l'ovule hors de l'organisme. L'exemple des poissons illustre cette modalité, où le mâle arrose de sa liqueur séminale les œufs qui ont été pondus. Mais à mesure que les types se différencient, ils s'adjoignent de nombreuses particularités qui leur permettent de porter les cellules germinales au contact l'une de l'autre, caractères sexuels secondaires dépendant étroitement de la sécrétion interne de la gonade. Chez les animaux à spermatogénèse cyclique, il y a également un développement cyclique des divers organes accessoires de la reproduction : épididymes, canaux déférents, vésicules séminales, prostate, glandes de Cowper, organes copulateurs, qui atteint son maximum au moment précis où va se déclencher la fonction fécondante du mâle. La probabilité de corrélations étroites entre tissu noble et tissu interstitiel devait tout naturellement venir à l'esprit.

Activité endocrinienne du testicule.

L'étude en a été particulièrement poussée. Les travaux sont nombreux et souvent complets, mais ce problème ne nous retiendra pas longtemps.

L'apparition annuelle des caractères contemporains de la reproduction chez la plupart des vertébrés a été observée il y a longtemps. On savait que les cornes de certains mammifères, la crête et les barbillons du coq, la voix de l'homme et le chant de nombreux oiseaux subissaient également des transformations frappantes au moment de la puberté. Et Berthold, en 1849, démontra que l'apparition de la crête du coq était due à une sécrétion interne du testicule.

Depuis les anciennes castrations pratiquées sur l'homme pour obtenir des eunuques ou des chantres pontificaux, l'expérimentation s'est limitée dans ce domaine aux opérations chirurgicales, tandis que vers le début de ce siècle de nombreux chercheurs s'intéressaient à presque tous les animaux : Nussbaum (1909), Bresca (1910) et Champy (1913) opéraient les amphibiens; Goodale (1913-1916) et Pezard (1918-1928), les oiseaux; Bouin et Ancel (1903) et leur école, Steinach (1894-1920), etc., les mammifères.

En 1869, on essayait d'obtenir des extraits capables d'améliorer la vigueur masculine, et c'est Brown-Séquard qui, en 1889, faisait connaître les premiers résultats. Ensuite, Mc Gey en 1927, Lœwe et Voss, Funk et Harrow en 1929, parvenaient à séparer de l'urine l'hormone testiculaire. Butenandt, en 1931, cristallisait androstérone et déhydroandrostérone, réalisant leur synthèse en 1935.

Les effets des castrations, des ligatures étagées, des injections d'extraits testiculaires, des greffes, les observations des crytorchides naturels et expérimentaux... ont permis de se faire, dans ce domaine, une idée assez précise de la sécrétion interne du testicule, de ses effets et de sa régulation.

La sécrétion interne testiculaire et, en fait, sous la dépendance de la pituitaire, il est logique d'admettre l'intervention

de l'hormone gonadotrope qu'elle sécrète. Des démonstrations ont d'ailleurs été faites avec toujours le même protocole d'ablation et de remplacement. L'hormone testiculaire réagit à son tour sur la pituitaire, comme Engle (1929), Evans et Simpson (1929) l'ont prouvé dans leurs expériences de parabiose. Le fait que de nombreux animaux n'ont qu'une activité génitale saisonnière est attribué au fait que la pituitaire n'a de son côté qu'une activité temporaire déclenchée par des facteurs saisonniers encore mal connus et différents pour chaque espèce. On retrouvera la même notion dans l'étude de la spermatogénèse.

Activité spermatogénétique du testicule.

Ce n'est pas, pour l'immense majorité des vertébrés, un phénomène continu, mais plutôt un processus cyclique défini, survenant habituellement une fois par an. Cette période spécifique est la « saison d'accouplement ». Elle varie avec chaque espèce et même dans chaque espèce avec les classes, et elle a besoin, pour se produire, d'une variété d'excitants et de régulateurs, qui, pour le plus grand nombre, ne sont pas encore connus.

Les poissons, sauf ceux qui vivent dans les eaux chaudes intertropicales, pondent en général au printemps; parfois aussi en automne et en hiver. Les longs périples que certaines espèces accomplissent pour se rassembler en un même point ont, depuis longtemps, frappé l'imagination, tout en servant l'industrie de la pêche.

La saison d'accouplement des reptiles est assez brève en pays tempérés, plus longue en pays chauds.

Les oiseaux ont une ou plusieurs saisons et la période d'accouplement tend à devenir continue sous les tropiques et chez les oiseaux domestiques.

Les mammifères présentent également une activité génitale cyclique, sauf les espèces domestiques et semi-domestiques, la plupart des primates et l'homme.

Le cas de l'écureuil *Citellius tridecemlineatus* est curieux.

C'est au printemps qu'a lieu l'accouplement. Puis, en juin, les cellules germinales disparaissent dans un testicule qui s'atrophie et remonte dans le canal inguinal et dans l'abdomen, si bien qu'en automne il ne pèse plus que le 1/8 de son poids intrascrotal. Au printemps suivant, les testicules redescendent.

D'ailleurs, chez les rongeurs en général, la situation du testicule est très variable, intra-abdominale, intrascrotale, intermédiaire, ou à tous les niveaux successivement.

Le cas des amphibiens nous intéressera davantage. Chez eux, une saison d'accouplement annuelle est la règle, mais elle peut être très brève ou très longue selon les espèces, très précoce dès la fin de l'hiver, tardive et prolongée en été et en automne. En somme, toutes les modalités coexistent.

La période d'accouplement est forcément précédée d'une période de multiplication des cellules germinales, et, là encore, ces périodes sont très variables dans leur durée et leur chronologie, la spermatogénèse pouvant apparaître par exemple à la sortie de l'hiver ou à la fin de l'été chez des espèces animales s'accouplant au printemps.

Chez les Urodèles :

En règle générale, les spermatozoïdes apparaissent tôt et restent de nombreux mois intratesticulaires.

Chez les Anoures :

— *Rana temporaria* (Aron, 1926) s'accouple fin février, jusqu'en avril parfois. La spermatogénèse survient en juin-juillet, et fin août les spermatozoïdes sont à nouveau abondants. La gonade subit peu de modifications pendant la fin de l'automne et l'hiver; elle est alors bourrée de spermatozoïdes qui « attendent les beaux jours ».

— *Rana esculenta*

— *Bufo vulgaris*

obéissent à peu près aux mêmes règles.

Nous aurons à reparler de ces animaux par la suite.

En résumé :

L'extrême variation de ces « cycles spermatogénétiques » ne permettait pas de soupçonner un trait commun qui les relierait l'un à l'autre. Il ne restait plus que l'expérimentation, qui a permis de dégager des nombreuses recherches entreprises une vue d'ensemble cohérente.

Un « cycle sexuel » mâle, d'après ce que nous savons du cycle sexuel dans l'organisme femelle, ne se conçoit guère sans la participation de la pituitaire. Certes, la gonade, pendant tous les premiers stades de son développement au cours de la vie embryonnaire, est indifférente à la présence ou à l'absence de cette glande. La formation des crêtes génitales, la colonisation de l'épithélium germinatif par les gonocytes primordiaux, la différenciation corticale ou médullaire aboutissant au type femelle ou au type mâle, s'accomplissent parfaitement chez les embryons dépourvus de pituitaire, anencéphales naturels ou expérimentaux et monstres divers.

A la naissance, il existe, chez l'homme du moins, une crise génitale des garçons, se manifestant par une hydrocèle comparable à celle de la puberté, que l'on attribue bien à une substance antéhypophysaire; mais il s'agit là d'un apport maternel, donc extrinsèque. Pendant la vie infantile, plus ou moins longue selon l'espèce, les glandes génitales sont à l'état de repos; les sécrétions de la pituitaire n'interviennent qu'à partir de la phase prépubertaire, pour déclencher l'activité génésique et la maintenir désormais dans son rythme d'activité normal propre à chaque espèce. Il est donc indispensable que la gonade ait subi, avant de répondre aux hormones de la pituitaire, un « développement initial » autonome (Vivien), quelquefois très rapide (pubertés précoces), souvent partiel et ne portant simultanément que sur quelques éléments qui, arrivés au stade de gonies, seront sensibles aux dites hormones et dégénéreront en leur absence. Que devient donc la gonade mâle après hypophysectomie ?

Les expériences de Smith et Engle, et de Zondek et Aschheim en 1927, ont permis de résoudre le problème. Les

auteurs ont expérimenté sur le rat. Puis d'autres travaux, nombreux, ont permis de tirer un ensemble de conclusions. En résumé :

1° *Sur les animaux à spermatogénèse continue*, l'ablation du complexe hypophyso-pituitaire entraîne :

— chez l'adulte : un arrêt des derniers stades de la spermatogénèse, une involution marquée de l'organe tout entier;

— chez le mâle impubère : les testicules restent dans leur état infantile;

L'implantation (Smith, 1930) amende ces troubles.

Font de même certaines substances gonadotropes, dont :

a) les extraits de sérum de jument gravide (Evans, Pencharz, Simpson et Meyer, 1933);

b) les urines de femmes castrées (Smith, Engle et Tyndale, 1934) et de femmes ménopausées;

c) les extraits de glande pituitaire (Greep, 1937);

2° *Sur les animaux à cycle saisonnier*, les résultats sont variables

— en période d'activité testiculaire : cessation de la spermatogénèse et involution des testicules;

— en période de quiescence : la spermatogénèse n'apparaît pas.

Ces conclusions résultent des expériences effectuées :

— sur la salamandre par Bruns et Buyse en 1932;

— sur la grenouille rousse par Gallien en 1938;

— sur le *Bufo marinus* d'Amérique du Sud par Houssay et Lascano-Gonzalès (1929-1939), qui mettent en évidence un temps de latence dans l'apparition des phénomènes involutifs et concluent que la pituitaire est indispensable à la maturation et à la pérennité des cellules séminales.

Des hypophysectomies ont été encore réalisées chez les rep-

tiles (Schaeffer et Walter, 1933), sur les oiseaux (Hill et Parkes, 1934, sur le dindon), et chez d'autres mammifères enfin (Hill et Parkes, 1932, sur le furet; Wells et Gomez, 1937, sur l'écureuil).

Les injections d'extraits pituitaires à des animaux normaux adultes ou impubères ont montré :

1° Que les batraciens sont sensibles aux hormones gonadotropes. Bruns et Buyse ont obtenu une spermatogénèse précoce chez des salamandres impubères (1931), chez des larves de salamandres récemment métamorphosées (1934).

Houssay et Lascano-Gonzalès, en implantant du lobe antérieur d'hypophyse chez le crapaud *Bufo marinus*, lui ont fait « émettre des spermatozoïdes dans les tubes séminaux » (1929). Rugh (1937-1939) a repris ces travaux, tandis que des résultats plus caractéristiques étaient obtenus par de Robertis et Breyter chez le même animal (1945) : ils ont trouvé que « les cellules de Sertoli deviennent enflées, vacuolisées, et expulsent des spermatozoïdes qui sont évacués dans les urines »;

2° Que les oiseaux sont également sensibles aux extraits pituitaires;

3° Que les mammifères le sont moins :

— chez l'écureuil impubère, Wells et Moore (1936) ont pu obtenir une puberté précoce, tandis que Baker et Johnson ont constaté chez l'adulte un accroissement de la spermatogénèse lorsque le testicule est au repos;

— chez le rat et la souris, on a prétendu pouvoir obtenir une spermatogénèse précoce, mais l'étude d'un stade spermatogénétique défini montre que, sur ce stade, l'injection d'extrait pituitaire reste sans effet (Moore, 1936);

— chez les singes, Engee n'a rien obtenu (1932);

— chez l'homme, enfin, une réponse du testicule à ces facteurs reste à démontrer.

Nous verrons dans un petit chapitre spécial les résultats qu'ont donnés les hormones gonadotropes gravidiques injectées à la place de ces extraits.

Les expériences n'ont pas démontré un rôle important du thymus ni des autres glandes endocrines dans la biologie testiculaire. La thyroïdectomie, empêchant la métamorphose des batraciens, n'empêche pas les gonades de ces « larves à vie » de mener à bien leur spermatogénèse.

*
* *

Mais des facteurs extérieurs n'interviennent-ils pas par des mécanismes multiples où entrent en jeu le complexe hypothalamo-pituitaire, les organes des sens, etc., dans la régulation du cycle testiculaire ? C'est le problème de l'influence des facteurs saisonniers.

La lumière joue un rôle : suggérée par Schaffer (1907), cette théorie fut expérimentée par Rowan sur les oiseaux (1929), lequel constata une augmentation considérable du poids des testicules à mesure que les jours allongent, et inversement, et obtint en plein hiver des testicules de printemps en soumettant les animaux à un « printemps artificiel » grâce à un éclairement progressivement croissant.

Mais ceci n'explique pas pourquoi les animaux hivernant dans le sol s'accouplent dès leur sortie au jour.

La température a été expérimentée sur la perche et sur l'écureuil, la chaleur semblant favorable à la spermatogénèse.

Ici se place une bien curieuse théorie, celle de la régulation scrotale de la température. Chez les mammifères, d'un point de vue phylogénique, le scrotum subit un développement progressif : les testicules des rongeurs en rut sont dans le scrotum, mais remontent ensuite; sauf chez la baleine, le phoque, l'éléphant et le rhinocéros, les testicules des mammifères sont intrascrotaux, nécessairement, car ils s'atrophient et dégénèrent assez rapidement chez les crytorchides naturels ou expérimentaux (d'où la thérapeutique précoce de l'ecto-

pie testiculaire avant l'âge de la puberté). La température scrotale est inférieure de 1 à 8° C à la température abdominale, nécessité vitale pour les spermatozoïdes, car, sans cela, ils sont retenus trop longtemps dans les épididymes, tandis que les tubes séminifères dégénèrent. Ce fait explique les stérilités temporaires après des états fébriles prolongés, et sans doute la finalité de la réaction du dartos scrotal aux variations de température.

En somme, du point de vue thermique, la chaleur favoriserait la spermatogénèse, les mammifères faisant exception.

*
* *

En outre, nous mentionnerons deux autres procédés expérimentaux :

Les effets de la vasectomie : Des travaux de Bouin et Ancel (1903), étudiant les cellules interstitielles des mammifères, et de Steinach (1920), il résulte que la ligature des canaux déférents est suivie d'une atrophie tubulaire et d'une hypertrophie interstitielle considérable de la glande testiculaire, hypertrophie devant apporter un surcroît d'hormones, donc un renouveau de jeunesse (rajeunissement des rats mâles séniles, opération de Steinach n° II). Ces théories et ces résultats sont fortement controversés aujourd'hui.

Les effets des greffes de testicule, particulièrement faciles chez les amphibiens (Welti, 1923; Ponse, 1924). Elles se font sous-cutanées ou intrapéritonéales. On observe chez le crapaud, selon K. Ponse (1924), une destruction importante de la partie centrale du greffon par phagocytose (les cellules de Sertoli phagocytant les éléments nobles) et sclérose consécutive. Les cellules germinales périphériques, surtout des cystes où la spermatogénèse est peu avancée, sont ultérieurement le point de départ d'une nouvelle poussée proliférative, d'autant mieux que le greffon est plus petit. Cette poussée est parfois très tardive; on l'observe même après deux ans, et à des époques indépendantes du cycle saisonnier de l'animal.

La glande est plus compacte et les spermatozoïdes libérés dégénèrent. Il y a des poussées successives, détruites au fur et à mesure, mais la lignée séminale reste en harmonie avec un tissu interstitiel bien développé.

Des greffes testiculaires ont été aussi réalisées chez les poissons, chez les reptiles, chez les oiseaux (Pezard, Sand et Caridoit, 1926, etc.), chez les mammifères, avec de grosses difficultés d'ailleurs et à condition de placer les greffons sous la peau du scrotum, comme pouvait le laisser prévoir le phénomène de la régulation scrotale de la température.

*
* *

Avant de terminer, il nous reste à parler de l'action des facteurs gonadotropes, et en particulier de ceux de l'urine de femme enceinte, sur le système reproducteur mâle.

Etant donné l'étroite dépendance qui unit le testicule à la glande pituitaire, il est logique de penser que les hormones gonadotropes de toutes provenances, dont l'action est si marquée sur l'appareil génital femelle, peuvent entraîner sur le système mâle d'appréciables modifications.

Mammifères :

Chez la souris et le rat : Selon les premiers chercheurs, les facteurs de l'urine ou du sérum gravidique agiraient d'abord sur la masse des cellules interstitielles, et par là sur les organes accessoires, ce qui explique assez bien les phénomènes observés par Fels (1927). C'était l'opinion d'Engle (1929), de Brouha et Simonnet (1929). En réalité, cette réponse dépend de l'âge : chez les animaux immatures, c'est en général vrai.

D'autre part, peut-on provoquer une spermatogénèse précoce chez ces animaux, comme le pensaient certains auteurs ? Il semble que non, si, comme pour les injections d'extraits pituitaires, l'on adopte comme test l'apparition « des noyaux allongés des spermatides en voie de transformation », qui ne se voient par normalement chez le rat avant le trente-troisième-trente-cinquième jour (Moore, 1936).

Enfin, chez les rats hypophysectomisés, pubères ou immatures, injectés par Collip, Selye et Thomson (1935), l'épithélium germinatif dégénère quand même, bien que le tissu interstitiel soit très développé. Smith et Léonard, commençant les injections dès après l'opération de leurs rats pubères purent conserver spermatogénèse et pouvoir fécondant, tandis que de nombreuses injections semi-tardives ne purent faire régresser chez presque tous les animaux l'involution testiculaire commençante.

Chez les singes, le tissu interstitiel s'accroît, les tubes spermatiques se développent, mais sans se différencier, les testicules descendent (Courrier et Gros, 1934).

Chez l'homme, l'espoir d'obtenir une descente testiculaire chez les cryptorchides naturels n'est pas vain, à condition qu'aucune lésion surajoutée ne fasse obstacle. C'est un traitement à essayer.

Oiseaux :

Ils sont sensibles aux extraits pituitaires, mais réfractaires aux hormones gonadotropes de grossesse.

Amphibiens :

Ils sont sensibles à toutes les hormones gonadotropes, nous l'avons vu, et l'étude qui suit va le démontrer largement.

*
* *

Les régulateurs hypophysogonadiques existent donc chez les mâles. Si les principes gonadotropes ne sont pas absolument identiques, les différences sont minimes et résident surtout dans le corportement sécrétoire de la pituitaire.

En effet, les greffes ovariennes intrarénales sur un soma mâle subissent une maturation folliculaire massive du type auxogène, mais qui avorte, faute d'une sécrétion en quantité suffisante par la glande pituitaire du principe crinogène (qu'il suffit d'ajouter). D'ailleurs, la pituitaire, indifférente à la naissance, ne se sexualise que tardivement, sous l'effet de

la gonade mâle ou femelle qui, même lorsqu'elle est greffée précocement à de jeunes individus du sexe opposé, n'en continue pas moins jusqu'au bout son évolution normale; cette sexualisation est alors définitive.

De plus, certains auteurs affirment que les principes auxogènes de la pituitaire agissent sur la lignée séminale (Vivien), provoquant le développement exclusif de la spermatogénèse sans provoquer le développement de l'interstitiel hormogène. Les principes crinogènes, au contraire, provoquant un hyperfonctionnement sécrétoire, entraînent le développement intense des annexes du tractus génital, sous l'effet des androgènes libérés. D'autres pensent qu'à une hormone distincte est dévolu le soin de régler le fonctionnement interstitiel tant ovarien que testiculaire.

C'est grâce à la lumière apportée par tous ces faits que nous pourrons aborder l'interprétation de nos résultats expérimentaux.

CHAPITRE III

LE CRAPAUD VULGAIRE

Classification.

Dans l'embranchement des Vertébrés à sang froid se trouve la classe des Batraciens, dont la peau est nue. L'ordre des Anoures comprend des animaux possesseurs de quatre membres à l'état adulte, mais dépourvus de queue. Ceux qui font partie du sous-ordre des Phanéroglosses ont une langue apparente, bien développée. La famille des *Bufonidae*, dont les représentants sont dépourvus de dents aux deux mâchoires, comprend le genre *Bufo*, qui groupe seulement trois crapauds assez voisins :

— *Le crapaud vert* (*Bufo viridis* Laur.), caractérisé par des yeux proéminents très rapprochés de la ligne médiane. Très rare en France.

— *Le crapaud calamite* (*Bufo calaimta* Laur.), assez semblable au précédent, sauf les membres postérieurs, qui sont beaucoup plus courts. Caractérisé par une ligne jaune qui s'étend le long du dos, du museau au coccyx. Le mâle est presque aussi grand que la femelle. Répandu en France.

— *Le crapaud vulgaire*, enfin (*Bufo bufo* Laur. ou *Bufo vulgaris*), que tout le monde connaît.

Description.

Le crapaud vulgaire mérite néanmoins une description plus détaillée, puisque c'est de lui qu'il s'agira dans nos expériences. Et si tout le monde a vu dans sa vie au moins une fois un crapaud, il y a de fortes chances pour que ce soit une femelle, car les mâles se rencontrent très rarement.

Le crapaud est répandu en tous lieux en France, jusqu'à une altitude de 2.000 mètres dans les Alpes. Le mâle mesure 7 centimètres de long en moyenne, tandis que la femelle, plus imposante, mesure 13 centimètres.

Le crapaud commun a une forme lourde et trapue. Sa tête est plus large que longue, plate, en forme de triangle. Ses yeux, tout à fait latéraux, assez gros et proéminents, dont l'iris doré, à la pupille horizontale, passe pour être le seul ornement gracieux sont munis de trois paupières dont une nictitante insérée sur la paupière inférieure. Un seul œil peut à la fois se fermer complètement en se rentrant. Le tympan à fleur de peau est peu visible en arrière des yeux. Le museau, court et mousse, présente deux petites narines. La langue, libre postérieurement, est allongée, plus étroite en avant : le crapaud la projette sur les proies dont il veut se saisir.

Il n'y a pas de cou apparent, la tête continuant le tronc, dont elle n'est séparée que par une légère échancrure répondant à l'angle des mâchoires; et la peau en est soulevée de chaque côté par de grosses glandes bombant derrière les yeux : les glandes parotoïdes.

Le corps est volumineux : la peau ne tient que par endroits aux muscles sous-jacents, dont elle est séparée ailleurs par les espaces et sacs lymphatiques. Celle du ventre est jaune sale, assez fine et lisse. Celle du dos est épaisse et ridée, très grumeleuse, surtout chez la femelle, où elle est irrégulièrement semée de tubercules verruqueux ou pustules, plus ou moins larges et saillants, parfois confluents; elle est diversement colorée chez la femelle, tandis que chez le mâle elle est plus terne, jaune verdâtre, plus ou moins veinée de noir. Le mimétisme du crapaud est très net, et d'un instant à l'autre il peut passer d'une teinte très claire à une teinte très foncée sous l'influence d'excitants divers, en particulier la lumière : fonction d'homochromie qui, par le jeu des mélanophores, l'harmonise avec la teinte de l'ambiance et qui est commandée, comme chez de nombreux batraciens, par les

effecteurs hormonaux ou nerveux d'origine hypophysaire (Hogben).

Cette peau est caduque, car l'animal mue assez souvent : quatre fois par an s'il est jeune; une fois l'an, en été, lorsqu'il est devenu adulte. La vieille peau se clive le long du dos, et, l'animal s'arcboutant, dégage son corps puis ses membres, qui retournent les téguments des mains et des pieds en doigts de gant. C'est une période critique pendant laquelle il est très fragile. Mal à l'aise, tout gluant, il a juste la force d'aspirer sa vieille peau, qu'il doit manger pour pouvoir muer à la saison suivante (Ponse).

Les membres sont assez grêles, surtout par rapport au tronc, et courts, de telle sorte que le ventre traîne par terre lorsque la bête se déplace en marchant, ou s'étale lorsqu'elle est arrêtée. Au membre antérieur, l'avant-bras est un peu plus long et plus épais que le bras, contraste particulièrement frappant chez le mâle; les coudes pointent en dehors, les mains s'orientent en dedans. A l'arrière, la cuisse ou fémur, assez maigre, n'est pas plus longue que la jambe ou tibia, qui s'articule avec un tarse volumineux flanqué de deux tubercules sur lesquels le crapaud repose. Tarse et pied proprement dit sont plus longs que la jambe.

Le membre postérieur est pourvu de cinq orteils modérément allongés, numérotés à partir du plus interne : le quatrième est de beaucoup le plus long. Une membrane les unit à la base, assez finement crénelée d'ordinaire sur le bord libre; la palmure est plus étendue chez les mâles, surtout à la saison du rut. Cette membrane digitale est épaisse et opaque, contrairement à celle de la grenouille, qui est mince et diaphane.

Le membre antérieur n'est pourvu que de quatre doigts libres, légèrement courbes, se terminant en pointe obtuse sans ongle; le troisième doigt est le plus long. Ces doigts portent chez le mâle des caractères sexuels secondaires très importants, bien étudiés par K. Ponse (1924), et qui nous ont permis de choisir les mâles nécessaires à nos expériences.

Quels sont donc les caractères sexuels secondaires du crapaud mâle ? Les uns sont physiologiques, tels que l'attrait sexuel, le cri spécial et continu du mâle pendant la période du rut, le réflexe d'embrassement : manifestations qui disparaissent après l'accouplement. Toutefois, le mâle continue par la suite à pousser son cri sous l'effet d'excitations diverses et parfois minimes comme nous l'avons observé; et le réflexe d'embrassement semble n'être que l'exagération saisonnière d'un réflexe plus général qui, dans les deux sexes, fait saisir à l'animal tout support lorsqu'il se trouve précipité dans le vide, ou le doigt qui lui frotte le sternum.

Les autres sont morphologiques : nous avons vu les différences de taille et de peau dans l'un et l'autre sexe, le développement plus marqué de la palmure plantaire et des formations osseuses et musculaires de l'avant-bras chez le mâle, mais le critère morphologique essentiel consiste dans le développement de brosses copulatrices qui apparaissent chez eux sur la face dorsale des deux premiers doigts, et sur le côté latéral interne du troisième; ces mêmes callosités se forment aussi à la face palmaire, sur une saillie située à la base du pouce.

Ces excroissances digitales subissent une évolution cyclique très marquée et bien définie. Histologiquement, il s'agit de nombreuses papilles épidermiques dont la couche cornée externe est colorée en brun foncé et hérissée de crochets Après la période de rut, où ces excroissances ont tout leur développement (mars-avril), des mues successives enlèvent la couche cornée superficielle à crochets, qui est néanmoins régénérée, mais de plus en plus faiblement. La coloration s'atténue, tandis que les papilles diminuent de taille : en général — car la régression est assez variable selon les individus — en mai les excroissances sont encore brunes, mais moins qu'en mars; fin juin, elles sont blanchâtres et dépourvues de crochet, ou encore brun clair avec quelques crochets (parfois on en trouve d'à peine modifiées); le maximum d'involution a lieu en juillet : l'épiderme, incolore, est dépourvu

de papille et de crochet, mais néanmoins plus épais, plus saillant que le reste des doigts ou que chez la femelle, et plus blanc parce que dépourvu de chromatophores sous-épidermiques.

De fin juillet en automne, la régénération des excroissances commence, les karyokinèses se multiplient, et en octobre les brosses copulatrices ont atteint leur plein développement, qu'elles conservent pendant tout l'hiver.

K. Ponse a solidement établi que ces caractères sexuels sont sous la dépendance de la fonction testiculaire. Ses expériences de castration et de greffes sur des animaux suivis pendant longtemps et réopérés plusieurs fois le prouvent indiscutablement. Le même auteur a constaté, en outre, que chez les animaux entiers malades, parasités ou amaigris, ces caractères sexuels secondaires pouvaient ne pas réapparaître : ce fait, observé par Harms sur des animaux auxquels il avait enlevé l'organe de Bidder, le fit conclure à tort au rôle de cette formation, alors qu'il s'agissait simplement d'un trouble de la nutrition.

Nous ajouterons que la présence de ces caractères sexuels secondaires doit suffire pour affirmer la puberté de l'animal; le poids de 40 grammes n'étant atteint que par des crapauds déjà âgés, on serait obligé de rejeter, en prenant ce chiffre comme limite inférieure, de nombreux animaux-tests parfaitement valables.

Organisation.

Les batraciens sont des animaux déjà anciens, au moins aussi vieux que l'homme. L'époque secondaire, toutefois, les ignorait, puisque la paléontologie n'y retrouve que des Anoures primitifs semblables aux pélobates et discoglosses modernes, issus des Embolomères du permien et du carbonifère, animaux mi-terrestres et mi-aquatiques qui passent pour être les ancêtres de l'homme ! Cependant on les retrouve au début du tertiaire, mais ils se sont très peu modifiés jusqu'à nos jours.

Les batraciens sont les premiers vertébrés terrestres, les premiers marcheurs. Ils ont inauguré la patte, le membre à cinq doigts d'où devait sortir la main : du poisson au batracien, la distance n'est-elle pas plus grande que du batracien à l'homme (Rostand) ? Mais pas plus qu'ils ne se sont affranchis complètement de la vie aquatique, puisque leur développement larvaire a encore lieu dans l'eau, ils n'ont pu s'adapter parfaitement à la marche et au sec : ce sont des êtres très vulnérables.

Leur développement anatomique reste simple; néanmoins, leurs organes présentent parfois d'intéressantes particularités.

Le tégument. — Chez le crapaud, le tégument est une source de venin. Sa sécrétion fondamentale, généralisée, dite à tort « bave du crapaud », est une sueur toxique qui rend l'animal glissant et sert surtout à favoriser sa respiration cutanée. Appelée encore venin muqueux, car il s'agit d'un liquide incolore, visqueux et filant, c'est un venin en ce sens qu'elle a un pouvoir stupéfiant, paralysant et arrêtant le cœur en diastole, action assez comparable à celle du venin de vipère.

Mais le véritable venin est celui que contiennent les glandes parotoïdes et les glandes formant pustules sur le dos des femelles, d'où son nom de venin dorsal, appelé aussi granuleux à cause de la présence de nombreuses granulations, épais et crémeux, lactescent dans l'eau. Rarement éliminé au dehors sous l'effet d'excitations intenses (crapaud saisi par un chien, ou bien après certaines injections d'urine comme nous avons pu le constater), il passe probablement dans son sang, particularité grâce à laquelle le crapaud est pratiquement immunisé vis-à-vis de nombreux venins animaux, mais ne se fixe que sur les ovaires et sur les œufs, qui deviennent ainsi toxiques. Ce venin dorsal renferme au moins deux principes (Mme Phisalix) :

— la *bufotaline*, résinoïde peu soluble dans l'eau, poison

cardiaque assez comparable à la digitaline (arrête le cœur en systole);

— la *bufoténine*, soluble dans l'eau, poison nerveux narcotique, convulsivant ou paralysant selon les doses.

Il était logique d'employer le venin de crapaud en thérapeutique, car ses propriétés sont multiples : hypersécrétantes (au niveau du foie, du rein et de toutes les glandes), toniques, etc.

Du fait de la constante humidité des téguments, l'évaporation à leur niveau est considérable. Ceci explique la sensibilité de ces animaux à la sécheresse atmosphérique, et nous avons vu des crapauds se dessécher au laboratoire en moins de quarante-huit heures, perdant parfois plus du tiers de leur poids. Et, fait encore plus remarquable, la plupart survivaient une fois réhydratés.

Le squelette. — Dans les expériences d'hypophysectomie, on pourra être amené à intervenir sur l'os parabasal ou basisphénoïde; il a, comme chez la grenouille, la forme d'une croix avec un prolongement antérieur, deux latéraux et un postérieur. Il recouvre la pituitaire, mais son ablation est rendue plus difficile, car cet os est très dur. Le reste du squelette et l'appareil musculaire ne présentent pas d'intérêt particulier.

L'appareil digestif. — Le tube digestif des batraciens est une illustration de l'évolution embryologique du tube entodermique. De la bouche au cloaque, il a donné de nombreux bourgeons qui se sont développés et se sont organisés dans une cavité thoraco-abdominale unique. L'on y trouve deux poumons volumineux lorsqu'ils sont gonflés d'air, à structure alvéolaire, descendant très bas, le droit plus que le gauche; ils encadrent de haut en bas le foie bilobé qui recouvre une vésicule biliaire énorme, une rate toute ronde et un pancréas allongé cachés derrière la courbure de l'estomac et du duodénum, quelques anses grêles aboutissent en bas à un rectum volumineux qui se rétrécit avant d'atteindre l'extérieur.

L'appareil circulatoire. — Il est assez simple. Le cœur est constitué de deux sinus veineux, surmontant un seul ventricule qui se vide par un cône artériel dans un tronc artériel, lequel donne naissance aux arcs aortiques. L'automatisme du cœur et ses possibilités de survie sont remarquables : l'on connaît les expériences sur les cœurs isolés de batracien et nous avons souvent remarqué que la mort apparente de l'animal n'était suivie qu'à très longue échéance de l'arrêt des battements.

Les poches lymphatiques sont très développées et communiquent avec la cavité péritonéale. Elles sont drainées par des vaisseaux lymphatiques aboutissant à quatre cœurs lymphatiques, deux antérieurs, et deux postérieurs, dont les contractions sont visibles sous la peau de chaque côté du coccyx. Ces cœurs, s'ouvrant dans les veines des membres, expliquent la capacité de résorption étonnante de ces animaux, vis-à-vis des injections sous-cutanées de liquide.

Le système nerveux central. — Il est bien développé, les lobes olfactifs en particulier, ainsi que l'épiphyse; la position de l'hypophyse par rapport au squelette de la voûte palatine a déjà été signalée.

Le système nerveux périphérique et les organes des sens. — Ils ne présentent aucune particularité remarquable, si ce n'est la richesse en terminaisons nerveuses de la peau qui font de celle-ci un organe aux fonctions multiples et importantes.

Le système uro-génital. — Il nous retiendra plus longuement, puisque c'est sur lui que doivent porter les expériences. Très développé en masse chez ces vertébrés inférieurs, il l'est moins quant à sa complexité.

Les glandes génitales apparaissent dans la région médiane de la moitié postérieure de l'embryon, masse impaire de cellules détachées du revêtement péritonéal de la cavité générale; flanquée de chaque côté des canaux de Wolff : c'est l'ébauche génitale primordiale.

Se bilobant ensuite, cette ébauche pousse deux saillies symétriques qui se pédiculisent dans la cavité abdominale : ce sont les glandes sexuelles primitives présentant deux sortes de cellules :

— petites cellules germinatives provenant de l'épithélium péritonéal;

— grandes cellules éparses pouvant être appelées cellules sexuelles primordiales.

Bientôt ces cellules grandissant par assimilation de vitellus, deviennent des ovules primordiaux, tandis que de nouveaux éléments d'origine péritonéale ou mésenchymateuse accroissent sans cesse le nombre de cellules germinatives, entourent et séparent les ovules primordiaux pour constituer l'épithélium germinatif.

Ces ovules primordiaux se divisent, les cellules germinatives leur constituant toujours un épithélium folliculaire spécial, augmentent rapidement en nombre — mais diminuent peu après par dégénérescence.

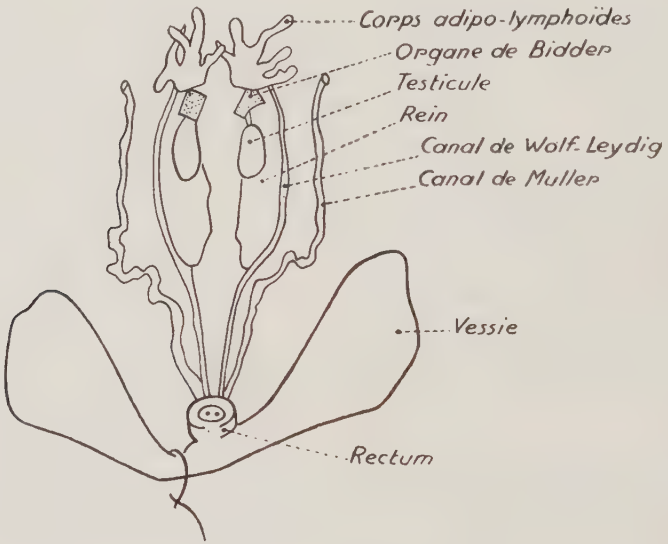
Pendant ce temps, le tissu mésenchymateux qui entoure le canal de Wolff, pénétrant à l'intérieur de la glande, constitue un stroma conjonctif dans lequel ovules primordiaux et cellules germinatives sont enrobés, et qui se feutre au centre en cordons médullaires. Il n'y a pas encore de sexe apparent, une dégénérescence accentuée des ovules primordiaux étant toutefois en faveur d'une glande mâle.

Dans les cordons médullaires, moins importants chez les femelles, vont se creuser très tôt les cavités de l'ovaire, sortes de nids cellulaires ou « oogonies », résultant de la division des ovules primordiaux et entourées par l'enveloppe épithéliale de l'ovule primordial originel. Ces oogonies se divisent simultanément pour donner des oocytes ou œufs.

Les cordons médullaires plus importants des mâles forment aussi, mais plus tardivement, des nids ou plutôt des ampoules contenant un certain nombre de cellules arrondies, volumineuses, issues de la division des ovules primordiaux : les divi-

sions postérieures (en effet, le caractère mâle définitif de ces cellules n'apparaît que très tardivement) de ces gonies constitueront la spermatogénèse.

En même temps que l'ébauche génitale, se développe une ébauche postérieure rénale, allongée dans le sens antéro-postérieur qui s'isole à son tour. Si bien que chez le crapaud adulte mâle, le testicule et ses annexes sont suspendus par un méso à la partie antérieure et ventrale du rein.



Le testicule a en général la forme d'un haricot rattaché au rein par son hile. De grosseur variable selon les saisons et les individus, de teinte variant aussi du jaune clair au gris noir, il a en moyenne 3/4 de centimètre de long. Des canaux déférents anastomosés en réseaux se jettent dans les glomérules de la partie ventrale du rein, et le sperme gagne par un canalicule rénal sémino-urinaire le canal de Wolff-Leydig.

Le testicule droit serait un peu plus gros que le gauche, et les pôles seraient coiffés de l'organe de Bidder (que nous avons toujours trouvé à distance et relié au testicule par un pédicule très apparent) : organe curieux puisqu'il a la signi-

fication d'un ovaire rudimentaire où les cellules germinales n'ont pas évolué normalement. Il représente la partie antérieure de la gonade, dans laquelle il ne s'est pas développé de cordons médullaires : il est donc formé uniquement de cortex. Il a une potentialité femelle comme l'a démontré K. Ponse; il existe parfois chez la femelle.

L'organe de Bidder est lui-même surmonté du corps jaune, ou corps adipeux, ou corps adipo-lymphoïde, qui se prolonge en digitations antéro-externes. Il accumule des graisses pendant l'été qui sont utilisées durant le sommeil hibernal et accessoirement pour le développement des testicules. K. Ponse a montré les relations de contiguïté qui existent entre cette dernière glande et les corps adipo-lymphoïdes.

Les reins, allongés et aplatis le long de la colonne vertébrale lombaire, retenus par un large pédicule à la paroi dorsale, de couleur rouge vif, sont longés sur leur bord externe par le canal de Wolff-Leydig qui conduit urine et sperme jusqu'au cloaque.

De part et d'autre, nous avons toujours trouvé un long tube contourné, dont l'extrémité antérieure effilée se termine en un minuscule pavillon, tandis que l'extrémité postérieure, plus large, rejoint son homonyme sur la ligne médiane derrière le cloaque, auquel aboutirait un cordon plein unique. Ce sont les vestiges des canaux de Müller de la femelle, assez peu modifiés. Ainsi se manifeste la tendance à l'hermaphrodisme de ces batraciens, tendance remarquable, puisque Fuhrmann a trouvé 2 hermaphrodites effectifs autogames sur 173 mâles avec ovaires et testicules, et 30 p. 100 d'hermaphrodites rudimentaires, tandis que l'hermaphrodisme potentiel est constant, grâce aux organes de Bidder qui peuvent, après castration, évoluer en ovaires fonctionnels avec développement parallèle du tractus génital femelle. Il faudra donc penser à un tel risque dans l'utilisation du crapaud mâle et employer de préférence deux ou plusieurs animaux.

Le centre de la région pelvienne est occupé par le cloaque. Sur sa face ventrale la vessie, grand sac diaphane bilobé.

remonte le long des parois latérales de l'abdomen lorsqu'elle est pleine, soutenue par des adhérences au péritoine; elle se déverse dans le cloaque par un canal large et court, qui s'ouvre à 4 ou 5 millimètres seulement de l'orifice externe de ce dernier. Au même niveau, du côté dorsal, les canaux de Leydig amenant urine et spermatozoïdes s'abouchent très près l'un de l'autre, mais séparément.

Il est important de noter l'absence de vésicules séminales ou de toute autre formation où pourraient s'accumuler des spermatozoïdes préformés.

Mœurs du crapaud.

C'est un être crépusculaire qui, en dehors de la courte saison de reproduction, se tient caché le jour pour sortir à la tombée de la nuit, en quête d'insectes, vers et autres proies (Boulenger). Les mâles, qui sont pourtant plus nombreux que les femelles au rendez-vous du printemps, restent ensuite particulièrement discrets et invisibles.

Le crapaud détruit des quantités prodigieuses d'invertébrés, parfois très gros; ceux-ci doivent être vivants et mobiles pour exciter sa voracité; se dressant sur ses mains, il les happe en projetant très rapidement sur eux sa langue gluante. Nous lui avons vu avaler de longs vers et des limaces en les saisissant toujours par leur extrémité antérieure, plus mobile. K. Ponse raconte qu'il ne digère pas les limaces, ni les morceaux de viande et produits divers non vivants lorsqu'on veut les gaver.

Néanmoins, le crapaud est très sobre et peu rester très longtemps sans manger. Divers auteurs voulant éprouver sa longévité, en ont emmuré pendant plusieurs années et l'ont souvent vu résister. L'animal étant poïkilotherme gaspille en effet très peu d'énergie.

Le crapaud ne boit pas par la bouche, mais par la peau; l'absorption d'eau est considérable, puisqu'il urine en vingt-quatre heures le tiers de son poids. Inversement, placé dans

une atmosphère sèche, il se déshydrate rapidement, et quoiqu'il puisse perdre sans périr plus de la moitié de son poids, il meurt assez vite.

Le crapaud résiste remarquablement aux variations de température et aux traumatismes. On peut donc l'opérer sans difficulté et avec des résultats constants, mais si certains admettent qu'il n'est pas réceptif aux infections du fait de sa température interne, K. Ponse les opère toujours avec de grandes précautions d'asepsie — et nous avons constaté nous-même que des bactéries peuvent pulluler dans ses urines.

D'ailleurs, le crapaud est presque toujours parasité dans ses poumons, dans son tractus uro-génital et intestinal. La faune qu'il héberge est parfois d'une richesse peu commune.

Souvent il se creuse un trou, peu profond (40 cm. maximum), mais préfère les galeries toutes prêtes, les dessous de grosses pierres, etc. Il vit en philosophe dans sa retraite, passant de longues heures dans le recueillement (Lataste), et ne sort que si le temps lui paraît favorable, à la recherche d'une proie : il marche plutôt qu'il ne saute. Le mâle s'écarte très peu de son domicile; et très tard dans la saison, lorsqu'il fait déjà froid, disparaît volontiers dans la vase, où il hiberne.

Physiologie sexuelle.

Dès leur réveil, à la fin de l'hiver, les mâles gagnent rivières et étangs, où aura lieu l'accouplement. Ils redeviennent pour un temps aquatiques. C'est « l'appel de l'eau » de J. Rostand, qui a écrit un très beau livre sur *La vie des crapauds*. Sans prendre la moindre nourriture, les mâles attendent la venue des femelles qui tardent jusqu'à fin mars; ils font entendre jour et nuit leur coassement plaintif. L'accouplement a lieu, le mâle saisissant la femelle par les aisselles : il durera une quinzaine de jours, jusqu'à ce que la femelle ponde ses œufs, qui seront fécondés au fur et à mesure de leur issue par les spermatozoïdes.

C'est à ce moment-là qu'on peut faire le plus facilement

provision d'animaux, car ils se rencontrent en grand nombre, parfois en grappe, lorsque les mâles — toujours plus nombreux — veulent tous saisir la même femelle (le réflexe d'étreinte est à son paroxysme). Cette « pariade » est mise à profit par ceux qui ont besoin de nombreux crapauds... L'ardeur sexuelle chez les mâles disparaît définitivement vers le 30 avril.

Les œufs, pondus en surface, éclosent en très peu de temps (une semaine), et le têtard, aquatique, résorbe ses branchies externes, pousse une paire, puis deux paires de pattes; au bout de douze semaines il se métamorphose en crapelet, perdant sa queue et remplaçant ses branchies internes par des poumons : c'est à ce moment-là que le complexe hypophyso-pituitaire entre en jeu.

Le jeune crapaud grandit lentement; le mâle serait apte à la reproduction au bout de trois ou quatre ans (Rostand), et la croissance se poursuit bien après l'âge de la maturité sexuelle, contemporain de l'âge d'apparition des brosses copulatrices.

C'est en tenant compte de ces données que l'on peut espérer perfectionner les techniques d'élevage.

Techniques d'élevage.

Si l'on veut conserver des crapauds pendant une ou plusieurs années de façon à avoir des animaux en bon état et dont on soit sûr, certaines précautions sont indispensables. Il y a en gros deux méthodes :

Elevage en vrac dans les terrariums. — C'est celle que nous avons employée, car nous n'avions ni le temps, ni les moyens de faire mieux.

Les terrariums sont des parcs plus ou moins vastes (5 m² par exemple pour 100 crapauds), ombragés, semés de gazon. Des planches enfoncées de 20 centimètres dans le sol empêcheront les crapauds fouisseurs de s'évader, tandis qu'un rebord supérieur empêchera l'escalade des animaux grim-

peurs. Il faut de l'eau courante dans un petit bassin à fleur de terre, et des abris de toutes sortes (grosses pierres, souches, etc.) que l'on déplacera souvent pour éviter l'humidité, conserver l'herbe et obliger les crapauds à bouger. En effet, ces animaux restent de longues journées immobiles dans la même position, et les ulcères sont fréquents aux membres et sur toute partie du corps en contact prolongé avec une arête vive, un contour saillant. C'est pourquoi les sols en ciment, gravier, sable, sont peu favorables.

On pourra distribuer aux crapauds des vers de terre et autres, mais les mêmes animaux mangeront toujours la part commune sans qu'on puisse s'en rendre compte. En tout cas, une eau renouvelée est indispensable, car si les crapauds sont mieux au sec, ils ont besoin de se baigner souvent pour se réhydrater et surtout pour se débarrasser de leur vieille peau au moment de la mue.

Elevage en chambre (K. Ponse). — L'auteur prend soin de faire accoupler les crapauds capturés à l'époque de la reproduction, dans des bassins de ponte, afin d'être certain que les femelles ont des ovaires réduits, les mâles des testicules vidés, « conditions favorables à la réussite de certaines interventions et bases de comparaison dans le comportement ultérieur des animaux ».

Après cela, les crapauds sont répartis par groupes de 15 ou 20 dans des cages de $40 \times 30 \times 40$ centimètres montées sur pieds. Les arêtes sont en bois ou en fer et forment cadre à une toile tendue qui constitue les parois. Le fond est amovible, en toile également, et supporte une auge pleine d'eau, à renouveler tous les jours; il est changé chaque fois qu'il est souillé, puis nettoyé et désinfecté.

Les animaux injectés ou opérés restent répartis dans d'autres cages, numérotés selon leur réponse positive ou négative. Des cordonnets de diverses couleurs, ou portant des perles teintées, noués autour d'une articulation ou autour du bassin, seront indispensables si l'on veut éviter toute

confusion entre deux animaux. Un tableau en face de chaque cage indique leur numéro et leurs marques distinctives, tandis que des inspections répétées permettent de réparer les incidents d'ordre matériel.

Les crapauds sont nourris individuellement une fois par semaine avec des vers de terre l'été, des vers de farine l'hiver; ils aiment aussi sauterelles, mouches, abeilles, en fait tout ce qui remue, mais digèrent mal les larves de mouches, les chenilles, les limaces.

L'hibernation sera obtenue fin novembre en garnissant la cage d'une couche de 20 centimètres de terre très sèche, surmontée d'un lit de feuilles mortes. De l'eau propre est encore indispensable. Il ne faudra surtout pas faire de feu si les crapauds ont déjà subi l'action du froid. En les conservant en chambre chauffée, on supprime l'hibernation, ce qui ne gêne en rien l'évolution normale du cycle sexuel.

... Les parasites intestinaux sont souvent une cause d'échec dans les élevages. Et pendant l'été, il faudra prendre garde aux larves de lucilie bufonivore : ces mouches pondent en effet leurs œufs sur la tête du batracien; les larves éclosent en deux-trois jours, et, pénétrant par les narines, sont la cause d'une myase généralisée mortelle dans les quatre-cinq jours.

Avant toute manipulation, il faut tenir compte de l'état de la glande génitale et de la peau des animaux. Pendant la saison d'accouplement, outre l'impossibilité théorique d'avoir des animaux-tests valables, la castration est rendue plus difficile par le fait que les testicules remplis de sperme sont volumineux, mous et friables, tandis que le méso est très réduit (surtout à droite) : d'où risque de dommage rénal suivi d'hémorragies presque toujours mortelles. Dès après le rut et pendant les mues, la peau, visqueuse et très vascularisée, rend l'animal également fragile : il faudra donc alors le ménager. Il sera encore bon de soumettre les crapauds à quelques jours de jeune avant opération.

Le crapaud et la médecine d'hier et d'aujourd'hui.

Dans l'imagination populaire ancienne, le crapaud nuit et tue. Ses méfaits sont innombrables, sur les bêtes comme sur les gens. Pendant des siècles, il a été considéré comme un animal diabolique, et, il y a trois cents ans seulement, était puni de mort quiconque usait de ses maléfices; de grands naturalistes, comme Cuvier, Lacépède, proposaient encore son extermination.

Cette légende de terreur ne pouvait manquer d'inspirer les poètes. Au pays des revenants et de la sorcellerie, Walter Scott, Robert Burns, n'ont garde d'oublier cet animal fabuleux, tandis que chacun se souvient de ces vers de Shakespeare, où, dans le sabbat de Macbeth, une hideuse mégère répète (acte IV, scène I) :

> Crapaud qui, sous la froide pierre,
> As, pendant une lune entière,
> Dormant, mijoté ton venin,
> Bous dans le magique brassin. »
>
> (Trad. J. Derocquigny.)

Pourtant, le crapaud n'est pas toujours maudit. Un troubadour annamite n'a-t-il pas chanté aussi sa tristesse solitaire :

> Ta mère, à ta naissance, te vêtit d'un habit de soie rugueuse,
> Et tu vis seul, assis en un antre profond,
> Que tu claques seulement de la langue, mille fourmis s'enfuiront;
> Que tu grinces des dents, le ciel s'en émeut.
>
> (*Chant d'Annam*, trad. Maspero.)

Mais si le crapaud gronde et tue, il guérit aussi ! Pline le Jeune, Aristote (qui croyait avec les Grecs que les crapauds naissaient de Jupiter dans les nuages — tandis qu'on parle de pluies de crapauds au moyen âge et encore de nos jours), Dioscoride, le pensent. Le venin de crapaud entrait dans la Thériaque — antidote contre les morsures venimeuses. Les

sorciers arabes vendent des crapauds desséchés — et bien d'autres choses — contre les douleurs; et en Chine, ce pays aux traditions millénaires, Malraux, qui la connaît bien, n'a-t-il pas remarqué « les boutiques aux crapauds-enseignes » des guérisseurs ? Le docteur Jules Regnault, dans son livre sur la médecine et la pharmacie chez les Chinois et les Annamites, ne raconte-t-il pas que de petits gâteaux contenant du venin de crapaud servent à guérir la « toux » (tuberculose) et les « tumeurs » (ulcérations) ?

Tant de vertus ne sont pas restées ignorées en France. Au v^e^ siècle, de Pharamond à Clovis, trois crapauds brodés « or sur fond azur » représentaient les armes de France, en hommage au Crapaud, Seigneur de la Thérapeutique (ne guérissait-il pas entre autres les écrouelles par simple imposition !). Mais la fleur de lis qui tomba sur la tête de Clovis lorsqu'il fut baptisé à Reims devait les détrôner peu à peu à son profit.

Jusqu'à la fin du xviii^e^ siècle, le crapaud fut utilisé, de façon plus ou moins occulte selon l'ostracisme qui le frappait, dans la fabrication de médicaments miraculeux; si bien qu'on peut encore lire, dans un dictionnaire botanique pharmaceutique de 1782, « tiré des meilleurs auteurs », le passage suivant :

« *Crapaud* (Bufo, five Rubeta) : est un animal hideux assez connu; il est ou aquatique ou terrestre : le dernier est le plus usité en Médecine, à cause qu'il contient plus de sel volatil que le premier. On perce au mois de juillet des Crapauds par la tête ou par le cou avec un bâton pointu, puis on les laisse sécher à l'air pour l'usage, tant interne qu'externe, parce qu'après sa mort il n'est plus venimeux, non plus que la vipère. Kiperus faisait sécher les Crapauds à l'ombre; il leur coupait la tête, et jetait les intestins, puis il réduisait le reste en une poudre très subtile, dont il faisait prendre le poids de douze à quinze grains aux malades d'hydropisie ascite, avec autant de sucre, avec un merveilleux succès. On peut en donner jusqu'à trois ou quatre fois, pourvu qu'on mette trois

ou quatre jours d'intervalle entre chaque prise, à cause que le remède est violent. Shroder assure avoir guéri parfaitement un hydropique désespéré avec la poudre de Crapaud. Le Crapaud desséché s'applique du côté du ventre, sur les charbons pestilentiels, après avoir été un peu macéré dans du vinaigre pour en attirer le venin ce qu'il fait si heureusement qu'on le voit gonfler. Il entre pareillement dans les amulettes qu'on porte pour chasser la contagion de l'air, et il arrête immanquablement l'hémorragie du nez, si on l'applique derrière les oreilles, ou si on le tient serré dans la main jusqu'à ce qu'il s'échauffe, si on le met sous l'aisselle, ou si on le pend au cou du malade. La cendre ou la poudre de Crapaud desséché, pendue au cou, dans un nouet, en sorte qu'il touche la fossette du cœur, guérit sûrement l'incontinence d'urine causée par le déchirement du col de la vessie dans l'accouchement des femmes. La poudre de Crapaud se fait par la trituration simple de l'animal desséché; mais les Crapauds calcinés sont meilleurs. Faites bouillir trois ou quatre Crapauds jetés vifs pendant une heure, dans une livre et demie d'huile d'olive; coulez l'huile et la gardez pour ôter les taches du visage, pour déterger les ulcères invétérés. »

Depuis lors, la bufothérapie a fait des progrès surtout scientifiques (Dr Cornilleau), mais le venin a encore une action hypersécrétante, vaso-constrictive, hémostatique, analgésique, tonicardiaque.

CHAPITRE IV

LE CRAPAUD ANIMAL-TEST

Utilisation du crapaud.

Les questions d'élevage étant résolues, nous allons voir comment utiliser les mâles en vue du diagnostic biologique de la grossesse.

Matériel.

En pratique, il faut peu de chose :

1° Une pipette : la pipette Pasteur convient très bien; il est préférable qu'elle se termine brusquement en pointe : on limera soigneusement le bout en tournant, de façon à le briser selon une circonférence régulière de 1 millimètre de diamètre environ;

2° Des lames et des lamelles bien propres;

3° Un microscope, avec constamment un objectif numéro 7, un oculaire n° 6 par exemple, pour avoir des données comparables;

4° Une seringue de 5 cm^3 et une aiguille assez longue.

Technique.

Elle comporte quatre temps, le troisième étant une période d'attente.

Premier temps : Il s'agit de contrôler l'urine de l'animal. Chez les crapauds en bon état de nutrition, il y a toujours suffisamment d'urine dans la vessie.

On s'empare sans crainte de l'animal à tester que l'on

place sur une table. L'on profite du court moment de surprise pendant lequel il reste ramassé sur lui-même pour jeter dessus une simple compresse et l'emprisonner dans la main, les pattes repliées sous lui. Il présente alors l'ouverture de son cloaque qu'il suffit de cathétériser à l'aide de la pipette. Si celle-ci a été judicieusement conçue, la dilatation qu'elle entraîne suffit à faire uriner l'animal dans sa cavité avant que ses parois ne viennent obstruer l'orifice de la vessie. Si cette manœuvre échoue, par des pressions lombo-abdominales, on peut exprimer l'urine. Ainsi, nous en avons toujours obtenu une quantité suffisante.

Le plus souvent, l'animal urine vivement et abondamment dans la pipette : il suffit de retirer prestement celle-ci pour couper l'arc réflexe de la miction, puisque le crapaud n'émet plus rien. Quelques gouttes, retenues alors par capillarité, sont largement suffisantes et permettent des manipulations plus aisées.

L'on dispose sur une lame une goutte de liquide. Et entre lame et lamelle, on examine au microscope. Parfois, l'urine est pure et claire; le plus souvent elle contient des cellules ovalaires, comme éclatées en croix, témoignant d'une bonne mise au point : en effet, il faut mettre au point sur la lame, et non sur la face inférieure de la lamelle séparée de la lame par une mince couche de liquide, car, lorsque les spermatozoïdes ne sont pas en très grand nombre, on ne les trouve pas dans la partie supérieure. Cette nuance reste perceptible même avec de faibles objectifs.

Parfois enfin, l'on aura la surprise de découvrir une faune inattendue, grouillante ou trémulante. La présence de vers indique en général que l'on a cathétérisé le rectum : le liquide recueilli est d'ailleurs beaucoup plus foncé; il vaut mieux recommencer. D'autres fois, dans l'urine, on rencontre des parasites traversant rapidement le champ : ce sont des flagellés le plus souvent, parfois des spirochètes. Ou bien de nombreuses bactéries, ressemblant à des bacilles typhiques, s'agitent en tous sens.

Ce contrôle pourra devenir peut-être superflu si des prélèvements répétés montrent aux autres expérimentateurs l'absence totale de spermatozoïdes que nous avons toujours constatée dans les limites de nos recherches. Cependant, Robbins, Parker et Bianco ont signalé que les *Xenopus laevis* mâles pouvaient avoir trois ou quatre spermatozoïdes mobiles et de plus nombreux spermatozoïdes immobiles dans le cloaque, normalement.

Enfin, dans la relative ignorance où nous sommes encore de l'activité génitale saisonnière du crapaud, nous ne pouvons conclure à une stricte impossibilité de l'élimination spontanée des spermatozoïdes en dehors de la période d'accouplement.

Deuxième temps : Après avoir garni la seringue de la quantité d'urine à injecter (3-4 cm^3 en moyenne), on s'empare encore du crapaud que l'on replace sur la table. On lui saisit une patte postérieure que l'on maintient dans la paume de la main gauche avec une compresse, tandis que l'index coince le corps de l'animal contre un obstacle quelconque. En effet, le crapaud se « contorsionne », et, si l'on opère seul, c'est le meilleur moyen de le retenir. La seringue montée est tenue de la main droite : l'aiguille s'enfonce facilement sous la peau de la cuisse que le majeur maintient en extension. L'on pénètre de 1 ou de 2 millimètres dans le muscle pour ressortir sous la peau du dos. Il suffit alors d'injecter l'urine, qui, se rassemblant transitoirement au point d'injection, diffuse rapidement dans les espaces lymphatiques.

Le crapaud est remis en cage jusqu'au moment de la lecture du test. On note soigneusement le numéro matricule de la bête, l'heure de l'injection, le volume injecté et la provenance des urines.

Si l'on pratique plusieurs réactions, il vaut mieux isoler chaque crapaud. Non pas que cette cohabitation puisse fausser les réactions, mais les animaux qui s'entassent volontiers dans un coin se souillent mutuellement d'urine, ce qui peut entraîner des erreurs.

Troisième temps : C'est essentiellement une période d'attente. Il faut être patient, rien ne sert de trop se presser. Nous verrons en effet que l'apparition de spermatozoïdes peut être tardive; de plus, leur disparition est également tardive. Une règle générale nous a toujours donné satisfaction : la réaction doit se lire en début de matinée, début d'après-midi ou fin d'après-midi si l'injection a été pratiquée en fin d'après-midi, début de matinée ou fin de matinée; soit après un intervalle de temps variant de cinq à quinze heures.

En cas de réaction ultra-tardive, on peut faire une deuxième lecture, après un autre intervalle de temps : mais nous n'avons jamais observé de réaction positive après plus de cinq heures d'attente.

Quatrième temps : De vérification ou lecture du test.

Le crapaud injecté sera manipulé de la même façon que dans le premier temps : quelques gouttes d'urine seront prélevées.

La liqueur séminale, si spermatozoïdes il y a, se diagnostique parfois à l'œil nu par son aspect lactescent sous un rayon de lumière. Aspect trompeur du reste, car il se rencontre aussi lorsque l'urine est riche en parasites et en microbes. Ce phénomène optique, simple effet de tyndallisation sans doute, n'est donc pas significatif.

Le microscope dira seul s'il y a des spermatozoïdes et en quelle quantité. Car un tel processus biologique n'est pas « un tout ou rien », et de nombreux facteurs interviennent sans nul doute dans sa production. L'on peut imaginer : d'une part une réponse individuelle du crapaud liée à l'état momentané de son système génito-urinaire, et à sa potentialité de réaction, également à son métabolisme hydrique (quantité d'urine excrétée), etc.; d'autre part, un effet gonado-stimulant essentiellement variable selon les liquides injectés, la qualité et la quantité des hormones qu'ils contiennent.

Pour la commodité et la rapidité de la lecture, nous avons même affecté chaque réponse d'un certain nombre de croix

(+), ne signifiant nullement « positivité de la réponse », mais simplement « nombre comparatif de spermatozoïdes ».

Dans le paragraphe suivant, nous allons exposer nos expériences en commentant certains résultats.

La réponse du crapaud aux injections.

Ayant pensé que le crapaud mâle vulgaire était susceptible de répondre aux injections de principes d'urine de femme enceinte tout comme les crapauds exotiques, dans un premier groupe d'expériences nous avons commencé par nous assurer de ce fait.

Nous avons donc recherché des urines de femme enceinte, ce qui était facile, et, faisant confiance à la gestante et aux théories modernes de l'élimination des hormones pendant la grossesse, notre choix s'est porté sur une urine de trois mois, du matin, de façon à injecter une humeur aussi concentrée que possible en prolans.

1° Effets des injections de prolans.

Crapaud I. — Sur ce crapaud contrôlé, nous avons pratiqué notre première injection, 4 cm³ d'urine de Mme B..., à 9 h. 30 du matin. A 11 heures, nous prélevions quelques gouttes de liquide cloacal et nous pouvions voir évoluer dans le champ du microscope un certain nombre de spermatozoïdes agiles et vigoureux. Nous devions, plus tard, gratifier de + + l'intensité de cette première réaction.

Nous pouvions dès lors espérer quelques résultats de la méthode et constater la précocité remarquable du test.

Pensant que les procédés d'extraction des prolans par les moyens chimiques étaient au point, et ne conservaient en fin d'opération que des produits purifiés, nous avons résolu d'obtenir les prolans selon la technique de J. Cheymol, qui nous a paru la plus satisfaisante.

A une quantité donnée d'urine filtrée, on ajoute 4 fois son volume d'alcool ordinaire à 95° et ajuste à pH5 avec quelques gouttes d'acide acétique. On mélange et laisse vingt-quatre

heures à la glacière. Un dépôt blanc se forme et l'on décante soigneusement le liquide qui surnage. On centrifuge rapidement (1 minute) le dépôt à 3.000 t/m. On reprend le culot par l'acétone et centrifuge à deux reprises : on laisse évaporer l'acétone du dernier culot à la température du laboratoire pendant un quart d'heure, et dissout le résidu dans du sérum glucosé isotonique.

Crapaud II. — 1 cm³ de notre solution correspondait à 10 cm³ d'urine. Deux crapauds reçurent chacun 0,5 cm³ (soit 5 cm³ d'urine) : comme dans la première expérience, la réponse, au bout d'une heure et demie, était nettement positive.

Par la suite, environ une vingtaine d'essais du même ordre devaient donner des résultats positifs constants. A telle enseigne qu'un échantillon de ce produit devait nous servir plus tard à contrôler la validité des réponses négatives dans quelques cas ambigus.

Crapaud III. — Connaissant dans le commerce une préparation pharmaceutique titrée biologiquement : l'hormone sérique des laboratoires Roussel (extraite d'ailleurs du sérum de jument gravide), présentée en ampoules de 40 U. Evans, nous pensâmes à l'utiliser.

Etant donné les difficultés de traduire exactement en unités internationales ou autres l'activité gonadotrope du contenu de ces ampoules, nous garderons l'unité Evans, qui est la quantité suffisante d'hormone capable de multiplier par 5 en 96 heures le poids de l'ovaire de la rate impubère.

A ce crapaud n° III, nous avons injecté 1/5 d'ampoule, soit 8 U. Evans. Trois heures plus tard, nous constations la présence de quelques spermatozoïdes très mobiles qui augmentaient en nombre par la suite. Voulant éprouver la sensibilité du crapaud à ces facteurs sériques particuliers, nous avons injecté à un autre animal 1/40 d'ampoule, soit 1 U. Evans, diluée dans 2 cm³ du solvant. Au bout de quatre heures, nous avons cru voir, en cherchant bien, 3 ou 4 spermatozoïdes,

mais, n'en ayant pas retrouvé par la suite, nous n'avons pas considéré ce résultat comme probant.

Néanmoins, il devenait évident que le système génital du crapaud, pour donner une réponse, devait recevoir une quantité d'hormones suffisante pour dépasser le seuil d'excitation.

Crapaud IV. — Aussi, dans une quatrième expérience, avons-nous essayé d'apprécier des degrés dans la « réaction spermatique » de ces batraciens.

A deux crapauds, nous avons injecté dans un premier temps 1/16 de centimètre cube d'hormone concentrée selon la méthode Cheymol, à 10/1, soit la valeur de 1,6 cm³ d'urine (la seringue comportait 16 divisions au centimètre cube. Le premier ne donnait pas de réponse; les urines du deuxième ne renfermaient que de rares spermatozoïdes.

Nous avons alors pensé qu'une si petite quantité de liquide dans d'aussi vastes poches lymphatiques pouvait très bien ne pas passer dans la circulation générale, donc ne pas atteindre les organes effecteurs; ou n'y passer que très lentement, d'où une concentration hormonale sanguine bien au-dessous du minimum efficace; ou encore, la peau du batracien étant une membrane très perméable et un important organe d'excrétion, le produit injecté retenu sur place pouvait aussi être éliminé sur place.

C'est pourquoi, dans un deuxième temps, avons-nous injecté à deux crapauds la même quantité d'hormone, soit 1/16 de centimètre cube, mais diluée cette fois dans 2 cm³ de sérum physiologique. Nous avons alors déclenché chez les deux crapauds une émission spermatique (pas très forte puisqu'elle n'est caractérisée que par + sur nos notes), qui a duré deux jours.

De cette première série d'expériences, nous pouvions désormais conclure que le crapaud mâle réagissait, par une émission de sperme plus ou moins durable, à l'injection, sous un volume suffisant, d'une quantité suffisante de prolans d'urine de femme enceinte, ou de principes de sérum de jument gravide (P. M. S.).

Quelle quantité de liquide fallait-il donc injecter pour remplir ces desiderata ? Nous plaçant du point de vue purement qualitatif, nous avons pensé qu'en injectant le maximum d'urine tolérable, la notion de volume était respectée, tandis que la quantité d'hormone étant proportionnellement plus grande, la réaction devait être plus sensible dans les cas limites.

Cette quantité était subordonnée aux capacités de tolérance des batraciens. Elles sont étonnantes. Empiriquement, nous sommes parvenu à cette notion que le crapaud supporte dans la plupart des cas parfaitement bien 1 cm^3 d'urine sous-cutané par 10 grammes de poids, soit 10 p. 100 de sa masse. C'est ainsi que nous injectons en moyenne 4 cm^3 pour les gros mâles, 3 cm^3 pour ceux qui sont plus petits. L'on peut déjà se rendre compte qu'à côté de cette notion de quantité, la notion de qualité de l'urine sera importante, puisque, par exemple, de sa dilution — donc en pratique de sa densité — dépendra sa teneur en prolans. En outre, les drogues diverses qu'absorbent les malades rendent les urines très toxiques : il conviendrait de supprimer toutes thérapeutiques actives lorsque, pour ces malades, on sera amené à pratiquer une réaction.

2° Effets des injections d'humeurs et produits divers.

La réaction est-elle spécifique des principes de grossesse précédents, et le crapaud ne répond-il pas à d'autres hormones présentes dans l'économie ? Dans une deuxième série d'expériences, nous devions nous en assurer.

Expériences sur les urines. — Nous avons commencé par injecter à deux crapauds des urines masculines du matin. Nous n'avons obtenu aucune réponse.

Puis à d'autres crapauds de cette même série, nous avons injecté des urines de femme non enceinte (ce qui est facile à vérifier par le comportement cyclique ultérieur). Nous n'avons pas non plus obtenu de réponse.

Enfin, à d'autres crapauds nous avons injecté des urines concentrées selon la méthode Cheymol, de femme non enceinte, à des doses variant de 5 à 20 cm³, sans jamais obtenir de réponse. Mais peut-être n'était-ce pas assez. Il nous a semblé d'ailleurs que les fortes doses des produits précipités par l'alcool étaient mal supportées par les animaux.

Expériences avec les hormones féminines. — Nous nous sommes ensuite demandé si d'autres principes des urines de femme enceinte ne pourraient pas, pour leur propre compte, réagir sur le testicule du crapaud. En effet, folliculine et progestérone se rencontrent en quantité d'autant plus importante qu'on se rapproche davantage du terme de la grossesse : ne joueraient-elles pas un rôle dans les diagnostics relativement tardifs ?

Nous avons donc injecté à plusieurs crapauds des produits divers, qui ne sont pas exactement ni l'œstrone, ni le prégnandiol urinaires. En particulier :

a) 10 mg. de difollistérol;
b) 1/2 ampoule de synthrogène;
c) 1 ampoule d'œstroglandol;
d) 2,5 mg. de lutogyl, produit assez toxique, qui, à plus forte dose, a tué tous les crapauds.

Hormones et extraits divers. — Poursuivant ces tentatives, nous avons injecté d'autres produits de différentes provenances, sans plus de résultat :

— de la cortico-surrénale :
1/2 ampoule de syncortyl 5,
1 double ampoule de cortine Laroche;
— du testicule :
1 ampoule d'acétostétranryl 10,
1/2 ampoule de testoviron 10;
— de la prostate :
2 cm³ d'extrait aqueux d'adénome prostatique;

et des pigments biliaires : ayant en notre possession des

urines d'ictériques, nous avons injecté 4 cm³ sous la peau d'un batracien, lequel a restitué dans son urine, pendant les jours qui suivirent, les pigments qu'on lui avait administrés.

Extraits post-hypophysaires. — 2 unités n'ont rien donné.

Sérum sanguin. — Après tant de produits divers, nous avons expérimenté une autre substance de l'économie humaine, la plus importante sans doute puisqu'elle est l'exutoire et l'effecteur des métabolismes tissulaires et surtout glandulaires : le sérum sanguin.

La question de la tolérance du crapaud au sérum, si riche en protéines et en produits de toutes sortes, se posait. Quelle quantité, injectée sous la peau, l'animal pourrait-il supporter ? Les essais ont montré que la dose de 1/2 cm³ par 10 grammes d'animal, soit moitié moins que l'urine, ou en moyenne 2 cm³, n'entraînait en général aucune conséquence catastrophique.

Nous nous sommes ainsi assuré à trois ou quatre reprises que le sérum masculin n'avait aucune action sur la production spermatique. Nous avons également vérifié que les injections de sérum de femme non enceinte restaient aussi sans effet.

Tandis que, comme nous le rapporterons dans le compte rendu de nos tentatives de diagnostic comparé, le sérum des femmes enceintes s'est montré remarquablement actif.

Facteur « C. U. ». — L'action de l'urine de femme castrée, dont l'effet purement auxogène a été démontré par les techniques améliorées d'extraction du principe et d'hypophysectomie des animaux testés, ne pourrait-elle entraîner une fausse réaction positive chez le crapaud, comme elle le fait souvent chez la lapine ? Nous avons pu recueillir plusieurs urines de femme castrée.

a) A Mme A..., il ne restait qu'un moignon de col, qui, faute d'ovaire, n'était sujet à aucun suintement sanglant, périodique ou non. Il est vrai que cette malade ne présentait

aucun des troubles sympathiques qui surviennent d'ordinaire après les castrations.

b) En revanche, Mme K... était affligée de tous ces troubles, véritable « syndrome de castrées » (bouffées de chaleur, palpitations, etc.), qui l'avaient d'ailleurs amenée en salle de neurologie. Un Brouha avait été demandé. Nous fîmes « un crapaud ».

Chez ces deux malades, le batracien ne donna aucune réponse.

Malheureusement, nous n'avons pu comparer ces résultats avec ceux qu'aurait donnés la lapine, puisque ces animaux manquaient à ce moment-là. Ils ne nous paraissent donc pas concluants. Mais il est probable, et non certain, que, pas plus que le système génital mâle du souriceau impubère, celui du crapaud ne doit être sensible à ces facteurs.

De même qu'il ne répond vraisemblablement pas à tous ces principes hormonaux qui passent dans l'urine de femmes atteintes de certaines aménorrhées primaires ou secondaires, de métrites déciduiformes, de cancers génitaux (col utérin et ovaires surtout), de kystes lutéiniques de l'ovaire, de certains syndromes hypophysaires (adénomes, acromégalies, hypertension intracranienne, etc.).

Nous-même avons expérimenté une urine d'une femme atteinte de maladie de Cushing, que, jusqu'à ces derniers temps, l'on attribuait généralement à un adénome basophile de la pituitaire. Nous n'avons pu obtenir de réponse positive (crapaud n° 51). Il est vrai qu'il ne s'agit pas là d'un de ces syndromes d'hyperpituitarisme tels que le gigantisme ou l'acromégalie.

L'urine de Mme D..., atteinte de cysto-épithéliome de l'ovaire, s'est révélée sans action (crapaud n° 52).

Un cas un peu particulier est celui de Mme R..., opérée dans le service de M. le Professeur agrégé Magendie pour un kyste lutéinique d'un ovaire, gros comme une orange. Nous avons injecté un crapaud (n° 28) avec 4 cm^3 de ses urines : au bout de deux heures, la réponse était positive et la pré-

sence de spermatozoïdes se manifestait pendant deux jours. Fallait-il conclure à une fausse positivité, comme cela se produit parfois avec la lapine ? En réalité, la coexistence d'un utérus gros et mou, qui a persisté dans cet état après l'opération, a fait soupçonner la possibilité d'une grossesse surajoutée... évidente actuellement !

3° Le diagnostic comparé de la présence de prolans.

Profitant de ce que le laboratoire de biologie avait des lapines pour faire des diagnostics de grossesse, nous avons, chaque fois que l'occasion se présentait, injecté simultanément lapine et crapaud. Il s'agissait le plus souvent de diagnostics « chirurgicaux » pratiqués assez tôt après un retard de règles, ou pour un utérus un tout petit peu augmenté de volume; c'est-à-dire de diagnostics relativement précoces.

Nous avons ainsi pu faire un certain nombre de diagnostics comparés, et les résultats, s'ils n'ont pas été toutes les fois corroborés par l'observation soutenue de ces malades et par le diagnostic du « temps » (l'état de grossesse étant alors d'ailleurs seul significatif), sont néanmoins intéressants et encourageants.

Dans un tableau récapitulatif, nous rapporterons les derniers renseignements cliniques qu'il nous aura été possible d'obtenir.

C'est ainsi que nous avons pu, en très peu de temps, faire 28 tests comparés lapine-crapaud. Ce n'est pas considérable, mais, étant donné qu'il s'agit de diagnostics « courants », l'on peut dégager de cette étude certains faits importants.

Jusqu'où va la concordance ? Comme dans toute expérience biologique, il y a plusieurs catégories de faits, et, puisque nous comparons deux méthodes, il arrive qu'elles concordent, qu'elles s'opposent, ou que, dans les cas intermédiaires, elles donnent des résultats douteux... que l'on traduit par l'euphémisme « à interpréter ».

Concordance :

a) *Réactions positives chez la lapine et le crapaud :*

12 fois sur les 28, la concordance a été parfaite entre les réponses du crapaud et de la lapine dans le sens de la positivité; le plus souvent, les premières injections étaient pratiquées en même temps et le crapaud permettait de prévoir la réponse de la lapine. Nous verrons dans l'étude critique du test quelles sont les modalités de cette réponse.

b) *Réactions négatives chez les deux animaux :*

12 fois, les injections d'urine — ou de sérum — n'ont été suivies par aucune réponse positive. La négativité, contrôlée chez le crapaud à intervalles réguliers de deux heures dans les heures suivant l'injection, l'était aussi deux fois par jour le lendemain et le surlendemain

Opposition :

Dans deux cas il y a eu opposition entre rongeurs et batraciens.

Premier cas. — Il s'agissait d'une malade de l'extérieur dont l'histoire était entachée d'une suspicion de début de grossesse. Le diagnostic biologique pratiqué sur les urines fut nettement positif avec la lapine, tandis qu'il demeurait négatif avec trois crapauds (n° 42) injectés tour à tour.

Nous verrons, à propos des diagnostics très précoces, qu'il est peut-être possible d'attribuer ce fait à un mode de réaction propre aux batraciens dans de tels cas.

Deuxième cas. — En sens contraire, puisqu'il s'agit d'une réponse positive chez les crapauds, négative chez la lapine.

A son passage dans le service de M. le Professeur agrégé Magendie, l'on fit à Mme M... « un Brouha » qui s'avéra négatif. Cette malade présentait des phénomènes de métro-annexite, avec un utérus un peu gros et mou, et un arrêt de la menstruation. Nous fîmes le 25 juin « un crapaud » (n° 39), qui donna une réponse positive. Un deuxième crapaud répondit de même. Le 5 juillet, nous pouvions nous procurer un

nouvel échantillon d'urine, et le crapaud (n° 41) donnait encore une réponse franchement positive (+ +) : les règles n'avaient toujours pas reparu.

Nous n'avons pu conclure, mais nous aurions bien aimé pouvoir refaire une lapine. Cependant, le dernier avis médical autorisé est en faveur d'une grossesse.

Réactions a interpréter :

2 cas sur les 28, qui n'ont d'ailleurs été douteux qu'avec la lapine.

Premier cas. — Il s'agissait d'une malade du service de gynécologie de l'hôpital Boursier, Mme L..., entrée pour métrorragies et traitée par les sulfamides. La possibilité d'une menace d'avortement ayant été envisagée (sur le vu de traces de manœuvres abortives), un Brouha fut demandé. La lapine mourut peu avant la deuxième laparotomie de lecture, qui montra des ovaires augmentés de volume, mais sans follicule vraiment hémorragique. Cependant le crapaud donnait une réponse positive... tandis que, sous l'effet du « lutogyl », tout rentrait dans l'ordre.

Deuxième cas. — Mme P..., consultante à l'hôpital Saint-André, présentait un syndrome abdomino-pelvien difficile à préciser. Avant toute tentative chirurgicale, on voulut connaître la réponse de la lapine : celle-ci montra un kyste sur un de ses ovaires. Le crapaud injecté en même temps n'avait émis aucun spermatozoïde.

Le même crapaud (n° 37) reçut en plus une autre dose d'urine (4 cm^3, soit 8 cm^3 en tout) six heures plus tard, toujours sans donner de réponse.

Le cas devait être un peu mieux éclairci : quatre jours plus tard, avec un deuxième échantillon d'urine, une deuxième lapine fut injectée, qui resta négative. Nous concentrâmes cette urine, injectant la valeur de 20 cm^3 à un dernier crapaud : ce fut en vain; mais il eût peut-être fallu concentrer davantage d'urine pour obtenir une quantité suffisante d'hormone, puisque Cheymol injecte dans les cas douteux une

quantité suffisante d'extrait représentant jusqu'à 200 cm³ d'urine..., ce qui lui permet d'éliminer quantitativement la grossesse dans des cas comme celui-ci, où un fibrome — la malade vient d'être opérée — entraîne parfois chez la lapine de fausses positivités.

*
* *

En résumé, il résulte déjà de cette étude comparée qu'en ce qui concerne le diagnostic *courant* de la présence d'hormone gravidique dans le sérum ou les urines de femme chez qui on soupçonne une grossesse les réponses du crapaud ou de la lapine sont à peu près équivalentes.

Nous avons du même coup démontré que le sérum peut être utilisé au même titre que l'urine, puisque, parmi les douze réactions positives, deux d'entre elles ont résulté d'une injection de 2 cm³ de sérum, et l'une d'entre elles a été pratiquée simultanément avec le sérum et les urines de la même femme, donnant des résultats en tous points identiques (crapauds n^{os} 34, 31 et 26).

CHAPITRE V

CRITIQUES DE LA RÉACTION

Nous savons qu'une réaction biologique qui prétend pouvoir faire le diagnostic de l'état de gravidité doit répondre à un certain nombre de conditions essentielles, qui sont des qualités de fidélité, spécificité, sensibilité, précocité, rapidité, facilité. Nous en ajouterons une septième, celle d'économie, très importante de nos jours. S'il était aisé d'attribuer à chaque test aujourd'hui préconisé un coefficient proportionnel à la valeur de ces sept critères, le classement arithmétique par ordre de mérite en serait vite fait ! Voyons ce que nous pouvons espérer du test du crapaud dans le diagnostic de la grossesse.

Fidélité.

Dans l'état actuel des expériences, il est impossible de faire une étude critique partant de ce point de vue. Le problème biologique ne donnant jamais une réponse absolue en soi, mais simplement « une plus grande probabilité », la seule façon de le résoudre est donnée par la méthode statistique, la loi du plus grand nombre.

Or, que disent les statistiques dans ce domaine ? Galli-Mainini déclare n'avoir que 92 réponses positives chez 100 femmes *enceintes* (les urines seraient, d'après lui, préférables au sérum) à tous les âges de la grossesse; tandis que sur 177 réactions simultanées lapine-*Bufo marinus*, 168 étaient concordantes, et 5 seulement positives chez le crapaud, 3 seulement positives chez la lapine. Robbins, Parker et Bianco rapportent simplement leurs expériences de titrage

comparé des hormones extraites de la pituitaire du mouton et des hormones d'origine choriale avec la rate, le *Xenopus* femelle et le *Xenopus* mâle : nous avons rapporté plus haut leurs résultats. Wiltberger et Miller, enfin, constatant que les urines des trois derniers mois de la gestation donnent 50 p. 100 de résultats faussement négatifs, rapportent que les urines des trois premiers mois ne leur ont jamais donné de fausse réponse négative, mais ne citent aucun chiffre.

Ce ne sont pas, à proprement parler, des statistiques, auxquelles nous n'ajoutons que 28 cas, dont quelques-uns demandent d'ailleurs à être précisés. Les techniques ne sont sans doute pas encore absolument au point : ne les voit-on pas évoluer même chez des animaux aussi fréquemment utilisés que la lapine ? Mais, du moins, peut-on espérer que les crapauds donneront autant de réponses exactes que ce mammifère, c'est-à-dire 95 à 97 p. 100

Spécificité.

C'est là le point crucial de toutes les techniques : il suffit de voir combien d'entre elles sont affligées de l'épithète « aspécifique » pour s'en rendre compte. Bien plus, la spécificité présente un certain degré d'incompatibilité avec la sensibilité, cause d'erreurs par excès, d'autant plus que les procédés sont plus perfectionnés. Nous savons que le diagnostic biologique de l'état de gravidité est basé sur ce fait que les hormones gonadotropes *sous condition de grossesse* sont en quantité incomparablement plus importante, et seules décelables par les réactifs biologiques. Or, nous connaissons des cas limites où, entre un œuf mort avec un reste d'activité placentaire et des états « hyperhormonogènes » que nous avons par ailleurs considérés, la réponse biologique demeure ambiguë.

Nos premières expériences semblent néanmoins prouver que la spécificité du crapaud mâle est au moins égale sinon supérieure à celle de la lapine. Mais si le batracien n'a pas réagi à deux injections d'urine de femme castrée, il n'est pas

prouvé pour autant que le facteur « C. U. » ait été en quantité suffisante pour entraîner une réaction chez la lapine..., puisque celle-ci n'a pas été injectée. D'autre part, les reproches adressés par Cheymol au test d'Hogben doivent nous rendre prudent.

N'ayant pu obtenir d'extraits antéhypophysaires (MM. Choay estimant qu'on ne peut à peu près rien retirer de la pituitaire de bœuf, et que les pituitaires de porc ou de mouton sont soit introuvables, soit avariées), nous n'avons pas expérimenté ces produits, comme l'ont fait H. et M. Hinglais, et comme nous aurions aimé le faire.

Quoi qu'il en soit, le fait que le crapaud a donné un résultat positif en opposition avec la lapine n'enlève rien à cette constatation qu'il n'y a jamais eu de réponse affirmative en l'absence avérée de toute grossesse.

Il demeure évident qu'un traitement intense et récent par les hormones, surtout celles d'origine génitale, peut et doit entraîner de fausses positivités. Nous avons, en effet, montré la sensibilité du crapaud au principe du sérum de jument gravide : il conviendra donc de cesser toute thérapeutique de ce genre assez longtemps à l'avance si l'on désire pratiquer un diagnostic biologique en s'adressant aux batraciens comme aux rongeurs.

Cet apport thérapeutique des principes gonadotropes nous fait penser à la grossesse môlaire, et à certains cas pathologiques difficiles à séparer complètement du précédent, apportant un fort contingent de principes de même nature : ces cas sont alors qualitativement qualifiés de « grossesse » par la réponse biologique. Il est encore évident que le crapaud de nos pays doit répondre dans ce sens, comme le fait le *Xenopus* femelle; malheureusement, si nous avons pu faire un diagnostic positif de grossesse chez une malade soupçonnée de môle hydatiforme, nous n'avons pu juger les effets d'injection d'urine provenant de malades atteintes de môles ou de chorioépithéliomes avérés.

Sensibilité.

Bien que la sensibilité se confonde dans un certain sens avec la fidélité, puisque c'est dans la mesure où le diagnostic positif ne manquera jamais en cas de grossesse que cette qualité sera suffisante, nous en parlerons dans un petit paragraphe qui nous permettra d'envisager quelques cas particuliers.

Il arrive parfois que des œufs morts avec rétention, des grossesses extra-utérines (40 p. 100 dit-on — lapine et crapaud ont permis d'éliminer avant la clinique l'éventualité d'une telle affection chez une malade : cf. réaction n° 12), des phénomènes d'hypoactivité placentaire, des grossesses môlaires récemment expulsées et non suivies de chorioépithéliome, entraînent de fausses négativités, alors que ces cas sont d'ordinaire considérés comme « états de grossesse ». C'est donc que la lapine n'est pas assez sensible ! Nous ne pensons pas que, sur ce point, le crapaud manifeste quelque supériorité.

Que se passe-t-il après un accouchement ou un avortement complet très récent ? Les courbes d'élimination hormonale traduisent une chute brusque, mais non subite, dans les jours qui suivent. « L'état de grossesse » continue donc encore quelques jours, et des cas de fausse négativité dus à la lapine ont pu être signalés. En est-il ainsi avec le crapaud ? Nous avons contrôlé une urine d'accouchée, et nous avons suivi deux malades avant ou pendant, et après l'avortement.

1° Mme T... entre dans le service de M. le Professeur agrégé Magendie pour métrorragies, les dernières règles datant de deux mois. Un crapaud injecté émet des spermatozoïdes pendant cinq jours. L'état de la malade ne s'améliore pas; elle continue à perdre. Un second crapaud injecté six jours plus tard donne une réponse négative; pendant ce temps, le diagnostic clinique d'avortement est porté et confirmé (réactions n°s 43 et 44).

2° Mme Cl... est entrée à l'hôpital après avortement, lequel

est suivi de curetage. Nous pratiquons « un crapaud » (n° 45) : réponse positive. Une deuxième réaction (n° 46) pratiquée trois jours plus tard demeure négative.

3° Nous avons seulement pu contrôler (réaction n° 47) que les urines de Mme Ca..., accouchée depuis la veille, étaient positives au bout de vingt-quatre heures.

Ces trois expériences ne permettent certes pas de conclure à l'impossibilité de fausses négativités, d'autant que le cas de Mme Ca... avait ceci de particulier qu'il s'agissait d'une éclamptique : d'où la probabilité d'une hyperconcentration hormonale de ses humeurs. Elles sont un argument de plus en faveur d'une réponse du batracien aux seules hormones gonadotropes *gravidiques* urinaires ou sériques.

Nous n'avons pas trouvé non plus de fausse négativité dans les quelques cas où nous avons injecté de l'urine de femme enceinte, même assez près du terme (en particulier une urine de 8,5 mois, n° 48). Le chiffre de 50 p. 100 d'erreurs donné par Wiltberger et Miller, avec *Rana pipiens*, pendant les trois derniers mois de la gestation, nous paraît bien considérable ! *Bufo vulgaris* serait-il plus sensible ?

C'est ce qui ressortira peut-être d'une quatrième qualité : la précocité.

Précocité.

C'est l'une des qualités essentielles du test biologique, puisque c'est en cela que réside le gros intérêt de la méthode : faire un diagnostic avant tout signe clinique et permettre au chirurgien de ne pas intervenir sur un utérus où un œuf vient de se fixer.

Nous avons eu la possibilité de faire un tel diagnostic. Nous avons expérimenté à intervalles réguliers les urines de Mme B..., dont les dernières règles dataient du 16 au 20 mai, dès qu'elle eut constaté l'absence des suivantes attendues du 10 au 14 juin. Une première réaction pratiquée le 15 juin fut négative, ainsi que deux autres pratiquées le 17 et le 19 juin. Ce n'est que sur les urines du 22 et du 24 juin que nous devions obtenir les premiers résultats.

1° Le 22 juin, le crapaud n° 49 reçut 3 cm³ d'urine de ce jour. Pas de réponse positive.

2° Le 24 juin, le crapaud n° 50 reçut 3 cm³ d'urine du matin; au bout de six heures, nous constations la présence de spermatozoïdes.

C'est alors que nous avons réinjecté au crapaud n° 49 3 cm³ d'urine supplémentaires, la même qu'il avait déjà reçue; cinq heures plus tard, il donnait une réponse positive.

Pour effectuer un contrôle, le crapaud 51 reçut 3 cm³ d'urine du 24 juin : à notre surprise, il n'avait émis, après six heures, aucun spermatozoïde; mais 3 autres cm³ injectés le soir entraînaient le lendemain matin une réponse franchement positive.

Dans tous ces cas, les spermatozoïdes, quoique très mobiles, étaient peu abondants : nous n'avons marqué que + après chacune des trois réponses.

La façon dont ont réagi les crapauds aux injections de prolans (les signes sympathiques survenus ensuite, ainsi que les modifications des seins et de l'utérus, permettent d'affirmer la grossesse presque à coup sûr) nous apporte quelques enseignements.

D'abord, le crapaud est capable de diagnostiquer une grossesse, *dans les douze jours* qui suivent le premier retard de règles, ou bien, si l'on admet que l'ovule est fécondé et se fixe dans l'utérus un certain temps après l'ovulation, *dans les vingt-deux jours* qui suivent le début de la grossesse. Il y a mieux, certes, mais dans la méconnaissance où nous sommes de l'activité sécrétoire (placentaire chez cette primigeste), nous pensons que ce n'est peut-être pas mal. Nous sommes encore loin des sept semaines indiquées par Joel à propos du *Xenopus*. D'autres expériences sont évidemment nécessaires.

Ensuite, le fait qu'il a fallu pratiquer une double injection chez deux des crapauds conduit à penser que, dans les cas à la limite, il convient d'être très prudent; et qu'un perfectionnement de la technique des injections permettra peut-être de découvrir et d'éliminer de fausses négativités éven-

tuelles. Il serait sans doute préférable, comme le préconisent Wiltberger et Miller, d'injecter constamment deux crapauds à la fois, étant donné qu'il peut y avoir entre eux une différence de sensibilité au test.

Rapidité.

Qualité encore importante, puisqu'elle amène le gros reproche que l'on adresse aux réactions d'Aschheim-Zondek et surtout de Fels.

A ce point de vue, le test du crapaud mâle est indiscutablement le plus rapide : de six heures pour le *Xenopus* femelle, ce délai a été ramené à demi-heure avec le mâle. Il semble que ce soit là un minimum. Nous n'avons jamais observé de réaction positive avant une heure; les délais de une heure et demie à trois heures sont plus courants, tandis que, passé un délai de cinq heures, nous n'avons jamais observé de résultat positif dans la quinzaine de réactions positives que nous avons ponctuellement suivies.

A cette notion de rapidité doit aussi s'ajouter une notion de durée : pendant combien de temps peut-on lire la réaction ?

Il s'agit d'abord de savoir ce que deviennent les spermatozoïdes dans l'urine. Sans présumer à l'avance du mécanisme intime qui leur fait abandonner le testicule, on peut considérer leur sort une fois que le flot urinaire consécutif à des injections relativement importantes de liquide les a entraînés avec lui dans la vessie.

Le cas du crapaud n° 31, qui a reçu 2 cm³ de sérum (lapine + + + +) est instructif. Injecté le 7 juin à 12 heures, la réaction est + + à 16 heures; elle devient + + + + le 8 juin; le 9 juin, le nombre des spermatozoïdes commence à décroître, et beaucoup se sont immobilisés; le 10 juin, ils sont encore nombreux (+ +), mais tous immobiles; ils se raréfient le 11 juin (+), pour disparaître le 12 juin.

On peut admettre que pendant un, deux ou trois jours, le testicule a continué à éliminer des spermatozoïdes. Les plus

vieux ont dû mourir les premiers (entre lame et lamelle, ils ne mettent guère plus d'un quart d'heure à demi-heure à s'immobiliser, bien que toujours dans leur élément urinaire et à une température qui ne doit pas être très différente de la température interne du batracien) : ce sont probablement des spermatozoïdes fragiles. Puis, peu à peu, au fur et à mesure que l'urine se renouvelle dans la vessie (nous savons avec quelle rapidité), les spermatozoïdes qui s'y sont accumulés disparaissent, faute d'apport nouveau.

Cette durée de cinq jours est d'ailleurs peu fréquente; en règle générale, les spermatozoïdes disparaissent de l'urine le troisième ou le quatrième jour. L'intensité de la réaction joue peut-être un rôle, mais ce n'est pas certain : par exemple, le cas du crapaud n° 54, qui a reçu 0,5 cm³ d'urine concentrée de 3 mois, et qui, de + + + + le 3 juin, n'avait que de rares spermatozoïdes au bout de vingt-quatre heures; tandis que le crapaud n° 43, injecté avec des urines de Mme T... (cf. avortements), répondait par une seule + et conservait des spermatozoïdes immobiles pendant cinq jours.

Nous ouvrirons une parenthèse pour émettre l'idée, opposée aux déclarations de Galli-Mainini, que le sérum de femme enceinte est préférable à l'urine. En effet, c'est le sérum qui nous a donné les plus fortes réactions que nous avons enregistrées l'une sur le crapaud n° 31, vu précédemment; l'autre sur le crapaud n° 34, qui émit des spermatozoïdes en quantité telle (+ + + + +) qu'ils occupaient toute l'épaisseur de la lame liquidienne et adhéraient anormalement à la lamelle. Peut-être, lorsque des recherches comparées et basées sur les procédés de dilution progressive, comme celles entreprises par Robbins, Parker et Bianco, auront été faites, sera-t-il possible d'entrevoir un procédé de dosage quantitatif au sérum, avec le crapaud comme avec la lapine.

Facilité.

Elle est indéniable. Nous avons vu le peu de matériel utilisé et la simplicité de la réaction, que nous n'eûmes aucune peine à imaginer.

Toutefois, la nécessité d'un examen microscopique — et non plus histologique — nuit dans une certaine mesure à la méthode.

Economie.

Etant donné les facilités d'élevage et la sobriété exemplaire de l'animal (à défaut de nourriture bien entendu), nous ne pensons pas qu'il coûte aussi cher que le *Xenopus*, lequel revient à 500 francs, ... mais peut servir 10 fois au minimum par an et ceci pendant huit à douze années !

Nous ne savons pas si le *Bufo* peut vivre aussi longtemps en laboratoire, mais nous nous sommes posé la question de sa réutilisation. Nous avons injecté à deux crapauds une première dose d'urine concentrée de 3 mois; huit jours plus tard, après avoir contrôlé la disparition des spermatozoïdes, nous avons réinjecté la même dose aux mêmes crapauds. Des spermatozoïdes apparurent à nouveau, mais en nombre beaucoup plus faible (+ au lieu de + + +). Il semble qu'il y ait « un épuisement testiculaire » en cas d'injections aussi rapprochées. Aussi pensons-nous qu'il vaut mieux attendre plus longtemps.

Il va sans dire que les crapauds « négatifs » peuvent supporter dans les jours qui suivent une deuxième dose d'urine. La question peut alors se poser du rôle joué par une première injection « préparante », en dessous « du seuil de sensibilité » du batracien, faite très récemment et restée sans réponse. Ce qui peut d'ailleurs n'avoir qu'un rôle favorable si on admet que la réaction, tout en étant « hyposensible », est spécifique du prolan.

De même que peut se poser la question de la formation d'anti-hormones dans l'organisme du crapaud.

*
* *

Nous allons essayer, dans un avant-dernier chapitre, d'acquérir, pour mieux comprendre ces phénomènes, quelques notions relatives au mécanisme intime de l'action des prolans sur l'appareil génital mâle du batracien.

CHAPITRE VI

LES EXPERIENCES D'HEMI-CASTRATION

Nous avons vu au chapitre de la biologie sexuelle ce qu'il fallait penser des corrélations hormonales étroites entre pituitaire — tissu interstitiel et cellules spermatiques — caractères sexuels secondaires, des influences extérieures, et de l'action des prolans. Les effets provoqués par ces dernières hormones sur le testicule du crapaud devaient retenir toute notre attention.

Pour juger de l'action des prolans sur le tissu interstitiel, nous avons pensé à plusieurs méthodes :

1° Méthode générale. — Etude des modifications du rapport :

$$\frac{\text{Poids moyen des testicules avant injection}}{\text{Poids moyen des testicules après injection.}}$$

Plusieurs dissections furent rapidement convaincantes : il n'y avait aucune comparaison possible entre les testicules de deux crapauds, aucune proportion définie entre la taille et le poids des testicules, et le poids des crapauds, poids dont on appréciera les variations lorsqu'on saura qu'un crapaud déshydraté qui pesait 21 grammes reprenait 12 grammes dans une nuit, soit 36 p. 100 de son poids normal.

2° Méthode histologique. — C'était sans aucun doute la meilleure solution.

A. Nous aurions pu faire des coupes de testicules de crapauds-témoins pour les comparer à des coupes de testicules ayant subi l'action des prolans. Mais nous ne pouvions pas

savoir si les testicules de tous les crapauds présentaient, à l'instant considéré, le même état histologique.

B. C'est pourquoi nous avons résolu, selon les conseils de M. le Docteur Servantie, de prélever un testicule avant de faire agir les prolans sur le testicule restant. C'est ainsi que nous avons été amené à pratiquer l'hémi-castration du batracien.

Ainsi, nous avions une base de comparaison solide : le testicule prélevé en premier. Nous savons que le droit est un peu plus gros que le gauche — aussi avons-nous ôté tantôt l'un, tantôt l'autre — mais doit-on conclure pour autant que les deux gonades ne sont pas au même stade évolutif ? A ce moment-là, il faudrait prélever une moitié de testicule : mais peut-on dès lors soutenir l'identité de toutes les parties constituantes d'une même glande ?

La technique d'hémi-castration.

Notre procédé est un peu différent de la technique de Mlle Ponse, qui a réalisé des ablations testiculaires partielles ou totales, mais bilatérales.

Anesthésie. — Le crapaud est endormi dans une atmosphère d'éther : ce procédé est préférable à celui qui consiste à placer l'animal dans une solution de cet anesthésique. Dans une cupule garnie d'un peu de coton hydrophile, on verse 5 à 10 cm^3 d'éther et on place le tout près du crapaud sous une cloche en verre. Celui-ci est assez long à s'endormir, cinq minutes en moyenne, mais il ne faut pas trop pousser l'anesthésie. Pour cela, il suffit de déplacer légèrement la cloche : le crapaud, qui prend d'habitude appui contre elle avec son museau, n'étant plus soutenu, s'affale. Opéré à ce moment-là, il remue à peine et se réveille dès la fin de l'opération. Si l'on se souvient que les poumons gonflés d'air descendent très bas, et que la vessie pleine remonte très haut, il sera bon, pour éviter des accidents graves, « d'exprimer » air et urine, comme le conseille K. Ponse, avant la fixation.

Fixation. — Le crapaud est retourné sur le dos et porté sur une plaque en liège formant table opératoire. On l'y maintient soit avec des élastiques qui appliquent les membres sur le liège; soit avec des épingles qui, à condition de pincer seulement un peu de peau à l'extrémité des membres, ne sont point du tout traumatisantes, mais tiennent très bien.

Incision. — Avec les précautions d'asepsie que l'on voudra (champs, etc., mais attention aux antiseptiques) — puisque l'animal est sacrifié peu après — on pratique l'incision latérale de K. Ponse, tout indiquée puisqu'on n'enlève qu'un testicule. A mi-distance des lignes médiane et latérale, 2 centimètres au-dessous de l'appendice xiphoïde environ, on fait une petite incision longue de 1 centimètre sur la peau; puis on incise la paroi musculaire un peu en dedans ou un peu en dehors.

On place un écarteur, soit un petit écarteur d'ophtalmologiste, soit l'écarteur imaginé par Mlle Ponse ou par Jaubert. On tombe sur la masse gastro-intestinale, qu'il suffit de réclíner du côté opposé pour apercevoir au fond de la gouttière latéro-vertébrale le testicule jaunâtre et ses annexes au-devant d'un rein rouge vif.

Extériorisation et ablation du testicule. — Avec une petite pince à champ, il est facile d'attirer le testicule hors de l'incision en le soulevant par sa concavité. Le rein offre une faible résistance, dont nous profitons en transfixiant le mésotestis très près du testicule avec une aiguille : celle-ci, appliquée par cette force de rétraction contre les lèvres de l'incision, maintient la gonade à l'extérieur; on enlève la pince à champ, qui, trop lourde, peut causer des dégâts.

On peut sectionner le mésotestis, bien apparent à l'époque où nous avons opéré et même après injection de prolans, à l'aide d'un galvanocautère d'après K. Ponse. Nous avons simplement passé, à l'aide d'une aiguille à suture cornéenne, un double fil de soie très fin au travers du mésotestis, de façon à faire avec ces quatre bouts une ligature vers un pôle

et une ligature vers le pôle opposé de la glande. Cela nous a semblé plus facile et plus sûr qu'une ligature unique, le fil guidé par son point d'implantation sur le méso se plaçant de lui-même au bon endroit. On sectionne avec un fin ciseau courbe le méso au ras du testicule : la ligature tient très bien, sans saigner, et le rein épargné regagne sa gouttière latéro-vertébrale, l'aiguille enlevée.

Le testicule prélevé, avec ou sans le corps de Bidder et le corps jaune, est placé aussitôt dans un liquide fixateur : par exemple le mélange genre Bouin :

1 partie de formol ordinaire;
3 parties d'eau;
acide picrique cristallisé à saturation,

additionné de 5 p. 100 d'acide acétique cristallisable au moment de l'emploi, nous a donné entière satisfaction. Ou bien on peut couper le testicule en deux, et faire avec une tranche un frottis humide sur une lamelle, que l'on fixera en la laissant surnager sur le même mélange fixateur pendant un quart d'heure.

Suture de la paroi. — En deux plans, musculaire et cutané, on pourra enlever les points cutanés au bout de quelques jours.

Les suites opératoires sont excellentes.

Applications pratiques de la méthode.

Au bout de quelques heures, ou le lendemain, nous avons injecté au crapaud l'urine à tester; le testicule restant répond de la même façon à l'action des prolans, et, en injectant 0,5 cm^3 d'urine de trois mois concentrée à 10/1, nous avons obtenu toutes les fois dans l'urine de l'hémi-castré un nombre aussi considérable de spermatozoïdes que chez l'animal entier.

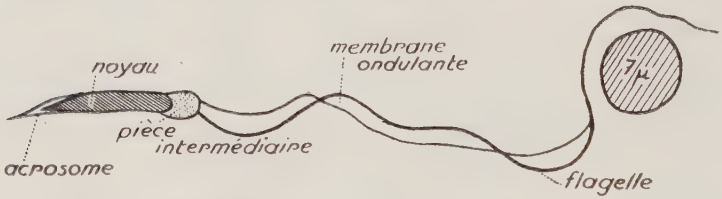
En revanche, les crapauds injectés avec de l'urine de femme non enceinte et autres produits n'ont jamais donné de réponse. Nous devions retrouver la vérification de ces

faits dans l'étude histologique des testicules. Auparavant, l'examen des frottis de cet organe devait nous faire connaître les stades ultimes de la spermatogénèse.

A. — Frottis humides de testicule.

Après fixation, nous avons coloré à l'hématéine-érythrosine. L'examen à l'immersion devait nous permettre de détailler spermatozoïdes et spermies.

Les spermies. — Spermie et spermatide sont les stades de maturation du spermatozoïde. Mais les frottis ne permettent pas de suivre régulièrement cette évolution, car ils offrent à la vue un polymorphisme cellulaire considérable, d'où l'on trouve tous les stades évolutifs entre le noyau rond des sper-



mies et le noyau filiforme des spermatozoïdes, en passant par le filament pelotonné, incurvé, puis allongé des spermatides en évolution.

La constatation de telles figures sur les frottis de testicules prélevés en mai nous a fait penser qu'à ce moment-là la gonade du crapaud, peut-être physiologiquement à l'état de *repos*, contenait néanmoins des spermatozoïdes mûrs ou presque mûrs, constatations corroborées par les coupes histologiques.

Les spermatozoïdes. — Le spermatozoïde du crapaud a l'allure générale de presque tous les spermatozoïdes; il comprend trois parties :

a) une tête, contenant la chromatine colorée en violet, surmontée d'un acrosome (corps céphalique ou perforateur coloré en rouge). Elle est assez longue, mesurant environ 15 μ

— à peu près le 1/5 de l'animal — sur 2 à 3 μ de large : sa forme rappelle celle d'un dard légèrement incurvé;

b) une pièce intermédiaire, courte (4 μ) et un peu plus large que la tête (on l'aperçoit très bien à l'examen direct des spermatozoïdes mobiles), colorée en rouge sur les frottis;

c) une queue, parcourue sur toute sa longueur par un filament axile, filament principal ou filaxe, qui débute au niveau de la partie rétrécie de la pièce intermédiaire par le centrosome proximal, impossible à voir sur ces colorations. Une membrane ondulante très ténue (2 ou 3 μ de large environ) accompagne le filament axile sur les deux tiers de sa longueur. L'ensemble a environ 60 μ de long, ce qui fait, pour le spermatozoïde, à peu près 75 μ.

Ces spermatozoïdes, en liberté dans l'urine, sont très agiles. Les fines ondulations qui parcourent le flagelle les propulsent assez rapidement.

La méthode qui nous a paru la meilleure pour colorer les membranes est celle au nitrate d'argent de Fontana-Tribondeau. Mais les têtes de spermatozoïdes, très fragiles, sont altérées par la chaleur.

B. — Les coupes de testicule.

Après deux ou trois jours de fixation au Bouin, on pratique des coupes fines que l'on colore :

— soit avec un trichrome (hématéine-érythrosine-safran) si l'on veut délimiter les contours cellulaires;

— soit à l'hématoxyline si on veut étudier les noyaux.

Structure. — Que voit-on sur ces coupes ? On reconnaît d'abord la structure générale de la glande génitale des batraciens : absence de canalicule spermatique, mais ensemble d'ampoules sphériques s'ouvrant dans un canal excréteur. Le testicule du crapaud est comparable à une glande acineuse. Chaque ampoule comprend un ensemble de « colonies spermatiques » individualisées jusqu'en fin d'évolution.

La Valette Saint-Georges (1876) désigne les alvéoles sous

le nom de kystes spermatiques (dits aussi spermatocystes), les colonies sous le nom de spermatogemmes. La partie germinale, immature, est à l'extérieur : grosses cellules éparses le long de la paroi, souvent plurinucléées, plus ou moins abondantes, gonies dérivées des ovules primordiaux; ces cellules ne sont pas encore différenciées dans le sens mâle, puisqu'elles subissent parfois la « dégénérescence oviforme ». Certains ovules fils donneront des « spermatogemmes » qui sont des cellules rondes plus petites, toutes de même grosseur et de même aspect, inséparables dans leur évolution. La partie mûre est en dedans et offre, au centre de quelques spermatocystes, un certain nombre de « faisceaux spermatiques » bien isolés les uns des autres, ou spermatoblastes, avec des têtes juxtaposées et des queues recourbées en arc, toutes dirigées dans le même sens. Des cellules folliculeuses ou cellules de Sertoli, cellules nourricières dérivées des cellules épithéliales du follicule ovarique primordial, entoureraient ces faisceaux.

Cette disposition en faisceaux est très générale, et Bugnion et Popoff (1907) l'ont bien étudiée à travers toute la série animale. Ils admettent que la cellule germinale s'étant divisée, les cellules filles différenciées dans le sens d'une lignée mâle deviennent chacune une « cellule initiale unique » qui, proliférant par progression géométrique régulière, conduit, pour chaque espèce animale, à un nombre type des éléments du faisceau, ou, dans certaines circonstances, à un multiple de ce nombre — soit 512 chez le crapaud. En outre, chaque faisceau serait en rapport avec un « cytophore », ou cellule nourricière, qui, chargée de maintenir la cohésion des éléments, de les supporter et de les nourrir, orienterait vers son noyau par l'intermédiaire de fins filaments protoplasmiques la tête des spermatozoïdes : ceci explique bien le fait que les queues regardent toutes vers la lumière du cyste.

Spermatogénèse. — La spermatogénèse chez les batraciens a été surtout étudiée par Champy (1913) et chez le crapaud par Buhler (1895). Ce sont déjà de vieux travaux, et depuis les premières théories de La Valette Saint-Georges (1876),

reprises par Jensen (1883), Swaen et Masquelin (1883), les idées ont évolué.

Quoi qu'il en soit, il est admis que les ovules primordiaux se multiplient par division un certain nombre de fois, donnant des cellules filles dont quelques-unes seront chacune « la cellule initiale unique » de la spermatogemme; les cellules de Sertoli se divisent également. Dans la spermatogemme, les cellules se divisent toutes ensemble, et toutes présentent par conséquent le même stade évolutif.

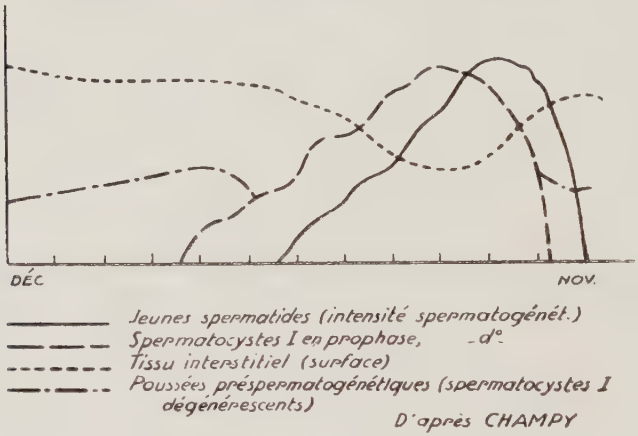
Chez la grenouille, où les cystes sont plus cylindriques que sphériques, les diverses étapes de la maturation spermatique sont faciles à suivre. Au commencement de l'hiver, par exemple, des spermatogemmes à tous les âges coexistent, et, l'une suivant l'autre, se dirigent vers la lumière. Les noyaux, en division, deviennent de plus en plus petits et foncés, subissent la réduction chromatique au stade de spermatocystes, se divisent encore une ou plusieurs fois pour donner des spermies, qui se transformeront en spermatides et spermatozoïdes. L'accord ne paraît pas encore réalisé sur le nombre de divisions des spermatocystes, et les désignations des diverses cellules varient avec les auteurs. La « cellule unique » se divisant huit ou neuf fois donnerait 256 ou 512 spermatozoïdes.

L'évolution de la spermatogénèse au cours du cycle saisonnier est plus intéressante. Champy, étudiant l'évolution des gonades des batraciens, signale que la spermatogénèse du crapaud subit, outre des phénomènes de préspermatogénèse qui avorte, des phénomènes d'accélération et de ralentissement pendant la période de maturation, qui commence en juillet et se termine avant l'hibernation. Il représente ces phénomènes par une courbe en cloche et ondulée. Ce réveil de l'activité testiculaire correspond bien avec l'apparition des brosses copulatrices, comme nous l'avons signalé. Et nous savons qu'à la sortie du repos hibernal, le crapaud répond à « l'appel de l'eau », refusant toute nourriture avant que son tractus génital, bourré de spermatozoïdes, ne se soit vidé sur

les œufs que pond la femelle : il y a donc certainement, pendant le mois de mars, impossibilité d'avoir un animal-test valable.

Malheureusement, les phénomènes dynamiques intratesticulaires ont beaucoup plus intéressé les chercheurs que l'état statique de la gonade en dehors de ces périodes évolutives.

Graphique de la spermatogénèse chez *Bufo vulgaris*.



D'après CHAMPY

L'état de repos de la glande ne signifie dans les ouvrages « qu'absence de maturation spermatique »; pourtant il nous serait très utile de connaître quelle est la traduction histologique de cet état de repos.

Notre incompétence dans ce domaine ne nous a pas permis d'étudier en détail tout ce que pouvaient nous enseigner les coupes que nous avons pratiquées. Néanmoins, nous ne pouvions manquer d'observer certains phénomènes importants.

1° Un crapaud (n° 55) a été hémi-castré le 27 mai et a reçu le lendemain une injection de 0.5 cm³ d'urine de trois mois concentrée.

a) Sur la coupe du testicule prélevé en premier, nous avons observé des vésicules à structure classique, avec une partie germinale périphérique (ovules primordiaux, etc., spermatogemmes jeunes et compactes occupant la presque totalité des

spermatocystes), l'absence de maturation spermatique, mais la présence au centre de certains cystes d'un amas compact de spermatozoïdes.

La présence de spermatozoïdes nous a déjà frappé, car nous pensions qu'à cette date le testicule devait être complètement privé de ses éléments.

b) Vingt-quatre heures après l'injection (donnant, comme nous l'avons vu par ailleurs, une réaction très positive), nous avons prélevé le second testicule, qui fut fixé aussitôt. Nous devions constater des bouleversements histologiques importants.

Les cystes sont considérablement augmentés de volume. Dans certains, il ne reste que quelques ovules primordiaux « accrochés à la paroi » et la lumière ne contient que quelques cellules semblant provenir de spermatogemmes disloquées et quelques spermatozoïdes épars. Dans d'autres, on observe des spermatogemmes soit peu nombreuses et également accrochées aux parois entre les ovules, soit plus nombreuses, mais laissant toujours une lumière béante.

Les amas spermatiques ont disparu.

2° Un crapaud (n° 56) a subi un sort semblable. Mais on lui a injecté à vingt-quatre heures d'intervalle deux fois 0,5 cm^3 d'urine de 3 mois concentrée (réaction également très positive), et le deuxième testicule n'a été prélevé qu'au bout de quarante-huit heures.

a) Avant injection, la coupe du testicule est significative des variations individuelles chez les batraciens. En effet, si la structure générale des cystes est à peu près la même, ceux-ci sont beaucoup plus dilatés que ceux du crapaud n° 55; des lumières sont nettes et contiennent des faisceaux spermatiques bien groupés, plus ou moins nombreux, et des spermies ou spermatides en voie de transformation.

b) Après injection, la coupe du second testicule montre encore des vésicules aussi agrandies, sinon plus, que dans le premier cas, avec les mêmes dispositions cellulaires. Les

faisceaux spermatiques se sont en général disloqués, et les spermatozoïdes restants forment un feutrage lâche en plein centre de la cavité.

Il résulte donc de ces deux expériences que les prolans gravidiques ont été capables d'entraîner au niveau des testicules des modifications morphologiques considérables, objectivées par l'examen histologique précédent et les microphotos que nous apportons.

Des modifications, à l'origine de l'émission spermatique qui permet la lecture si facile du test, sont d'ailleurs visibles à l'œil nu sur les testicules en place (nous verrons au chapitre de la discussion en quoi elles consistent) et sur les coupes des gonades traitées, qui présentent par transparence une trame beaucoup plus lâche, beaucoup moins foncée que celle des glandes témoins.

Nous ne pouvons pas dire si le tissu folliculaire, le tissu interstitiel, hormonogène, les organes de Bidder, ont subi quelques modifications. Les corps adipolymphoïdes, dont le rôle dans la nutrition des gonades est bien connu, nous ont paru diminuer de volume dans le cas du crapaud n° 56.

Un fait remarquable attire l'attention : il s'agit de l'absence complète de figures de meiose dans les deux préparations. Mais, avant de passer à la critique, nous devions nous assurer que l'hémi-castration n'était pour rien dans ces phénomènes et que les urines de femme non enceinte restaient sans effet.

3° Un crapaud (n° 57) a été hémi-castré en même temps que les deux précédents, et son second testicule prélevé quarante-huit heures plus tard (il n'a évidemment émis aucun spermatozoïde). Les coupes des deux gonades placées côte à côte sont impossibles à différencier.

4° Un crapaud (n° 58) a été hémi-castré un peu plus tard, le 11 juin, et a reçu le lendemain 4 cm³ d'urine de femme non enceinte (testée également avec un crapaud entier). Les mêmes remarques s'imposaient.

Nous avons néanmoins noté sur les deux coupes un nombre beaucoup plus considérable d'ovules primordiaux et quelques figures de meiose à l'intérieur de spermatogemmes un peu plus volumineuses. L'époque plus tardive de l'opération, ou une précocité plus grande du crapaud, suffit-elle à expliquer cette particularité ?

C. — Essai de discussion critique.

Que s'est-il donc passé à l'intérieur des testicules sous l'effet des injections de prolans ? Faut-il penser, comme certains, à une excitation spermatogénétique directe, ou les prolans agissent-ils indirectement en incitant la sécrétion antéhypophysaire ? Y aurait-il des phénomènes de « maturation spermatique » comparable à la « maturation folliculaire » des rongeurs ?

L'hypophysectomie du crapaud présente, nous l'avons vu, une plus grande difficulté du fait de la solidité de l'os parabasal. Nous ne l'avons pas tentée; aussi, en sommes-nous réduit aux hypothèses !

Nous remarquerons d'abord deux faits essentiels :

1° L'absence de figures de meiose, ou phénomènes de maturation spermatique à partir de spermatogemmes encore jeunes, ce qui n'est pas en contradiction avec ce que nous savons du cycle spermatogénétique de l'animal;

2° La présence de spermatozoïdes résiduels dans la cavité des spermatocystes et le polymorphisme statique des aspects dits de repos sexuel.

— *Sur les coupes de testicules après injection au bout de vingt-quatre ou quarante-huit heures :*

1° L'absence encore évidente de figures de meiose : Nous n'avons même pas déclenché de divisions cellulaires.

A première vue, il semble pourtant que le contenu des cystes a fondu : leurs parois, primitivement tapissées d'une épaisseur continue et dense de spermatogemmes juxtaposées,

ne semblent plus formées par endroits que de fines cloisons de soutien limitant une mince épaisseur de tissu interstitiel Les gonies primordiales restées accrochées aux parois font une saillie nettement visible dans la lumière, tandis que les spermatogemmes se sont isolées, çà et là, individuellement ou par groupes, et semblent s'être pédiculisées;

2° La dislocation des masses spermatiques dont il ne reste qu'un feutrage lâche au centre des vésicules.

Comment expliquer ces particularités ?

L'injection de prolans a eu certainement un effet hypertrophiant; nous avons constaté une augmentation de volume frappante des testicules *in situ* des crapauds n°s 55 et 56, et une vascularisation hilaire de la glande beaucoup plus intense que normalement. L'examen à l'œil nu des coupes suffit pour deviner déjà la dilatation des cystes, et l'examen microscopique, au très faible et au fort grossissement, surtout s'il porte sur les lumières, est frappant.

Faut-il en conclure que pendant le court laps de temps où les testicules ont été soumis à l'action des prolans — vingt-quatre ou quarante-huit heures en tout — les spermatogemmes se sont transformées en spermatozoïdes et éliminées ? Nous ne le pensons pas, car on trouverait bien en elles quelques figures de mitoses résiduelles : des coupes de testicules, prélevées à intervalles de plus en plus rapprochés du moment de l'injection, seront des repères précieux.

Il nous paraît probable qu'à l'intérieur des cystes considérablement dilatés, les spermatogemmes se dispersent plus ou moins régulièrement, et sur une circonférence demeurent très peu nombreuses, puisque, vis-à-vis de leur nombre qui reste constant, la surface de la vésicule s'accroît proportionnellement au carré de la variation des rayons (1).

Quant aux spermatozoïdes, quelques-uns persistent dans les lumières, et, si l'on peut renouveler à leur propos les

(1) La critique que M. le Professeur de zoologie Avel a bien voulu faire de ces coupes nous a fourni de précieux enseignements.

remarques précédentes, il y en a assurément quelques-uns en moins... que nous avons retrouvés au dehors. Ces spermatozoïdes restants doivent permettre d'expliquer pourquoi et combien de fois le crapaud est réutilisable.

Ainsi, le fait qu'au mois de mai les testicules de *Bufo vulgaris* sont en inactivité spermatogénétique (ce qui concorde bien avec « l'état de repos » des données classiques), mais contiennent néanmoins des amas ou des faisceaux de spermatozoïdes mûrs ou à peu près mûrs (sur le vu des frottis), le fait que les injections de prolans ne déclenchent aucune activité mitotique, mais simplement la dislocation plus ou moins complète des faisceaux spermatiques (ou amène peut-être à la rigueur la fin de maturation des spermies présentes) et leur élimination à l'extérieur, nous ont conduit à imaginer l'explication suivante :

1° Sous l'effet des injections de prolans, le testicule du crapaud, tout comme l'ovaire de la lapine, subit une hyperhémie, une congestion (phénomène qui se conçoit très bien chez un animal à sang froid), dont l'effet immédiat est de dilater les éléments glandulaires. Nous avons, en somme, réalisé le test de vingt-quatre heures de Zondek.

2° Les spermatozoïdes mûrs sont expulsés par simple effet mécanique, ou neuro-hormonal. Le test étant subordonné à la présence de ces éléments dans le testicule, toutes les glandes en période de repos sexuel doivent en retenir — ou en fabriquer — une certaine quantité, quantité nécessaire et suffisante pour plusieurs tests successifs. Des coupes en série pendant la période de repos sexuel sont donc nécessaires.

3° Lorsque l'effet de l'injection est passé, la congestion cesse, et le testicule, revenant à son état antérieur, peut réagir (quoique plus faiblement si l'on en croit notre tentative de réutilisation) à une nouvelle injection.

En résumé : la réponse du crapaud aux injections de prolans n'est pas exactement une « spermatogénèse », mais plu-

tôt une « éjaculation », le testicule étant sa propre vésicule séminale !

Objections. — Au point de vue de la *validité* des résultats, on peut nous objecter deux faits :

1° Les crapauds qui nous sont parvenus ont été ramassés, par les soins des Laboratoires Bufox, dans les mares de la région parisienne au moment de l'accouplement. Il se peut donc qu'ils n'aient pas rempli leur rôle fécondant s'ils ont été pris avant la ponte de la femelle. Malgré tout, le tractus uro-génital, bourré à ce moment-là de spermatozoïdes, ne peut les éliminer que vers l'extérieur; et le testicule, par l'intermédiaire du complexe hypophysopituitaire, a bien subi les influences saisonnières qui régissent son cycle évolutif.

2° L'abondance du matériel entraînait de grosses difficultés au point de vue alimentation : celle-ci fut donc un peu négligée — ce qui nous a fait admirer la sobriété exemplaire de l'animal. Quelle est donc l'influence du jeûne sur le système génital du crapaud ? Nous avons vu que les brosses copulatrices pouvaient ne pas réapparaître; et Nussbaum n'a-t-il pas réalisé des « castrats alimentaires », avec involution testiculaire partielle ? Si le jeûne a un effet, ce ne peut être qu'en entraînant l'hyporéactivité d'un organe amoindri, soit plus simplement une « hyposensibilité ».

Ce qui nous amène à penser que, dans le cas opposé d'hyperactivité testiculaire — en fin d'automne par exemple — le crapaud s'avérera peut-être un animal beaucoup plus sensible qu'il ne l'est actuellement.

Tandis que des conditions particulières de température et d'éclairement, si l'on se rappelle l'influence du milieu extérieur, pourront constituer une amélioration immédiate de la technique : Galli-Mainini, Weissman et Coates ont signalé le rôle favorisant de la chaleur et de l'obscurité.

CHAPITRE VII

EXTENSION DE LA METHODE

De tels résultats ne peuvent qu'encourager à poursuivre les recherches en profondeur comme en étendue.

Or, nous avons dans le Laboratoire un second batracien, beaucoup plus facile à se procurer que le crapaud, et surtout que le crapaud mâle : la grenouille verte *Rana esculenta*, employée couramment dans des expériences d'hypophysectomie.

L'accouplement de la grenouille est un peu plus tardif que celui du crapaud; aussi était-il très facile, à la fin du printemps, de reconnaître les mâles des femelles, grâce surtout au développement musculaire, imposant au moment du rut, de la première phalange du premier doigt, qui regarde en arrière.

Dans cette espèce, les mâles ont aussi des callosités — difficiles à voir —, le privilège de la voix (grâce à deux sacs vocaux latéraux), et sont aussi grands que les femelles. L'appareil uro-génital diffère de celui du crapaud en ce que les testicules sont sphériques; et les canaux de Leydig sont flanqués de deux vésicules séminales abouchées au niveau de leur terminaison dans le cloaque : ces vésicules sont atrophiées en période de repos sexuel, et elles ne nous paraissent pas avoir un rôle important.

La spermatogénèse de la grenouille subit aussi une évolution cyclique assez comparable à celle du crapaud (Champy). Nous avons fait des frottis de testicules, sur lesquels nous avons trouvé des spermatozoïdes, mais en quantité beaucoup moins abondante que sur les frottis de testicules de crapaud.

Nous avons injecté trois grenouilles mâles avec 0,3, 0,4, 0,5 cm³ de la même urine de 3 mois concentrée; prélèvement de contrôle et prélèvement de lecture s'effectuent de la même façon et sont aussi faciles à faire que chez *Bufo*.

Au bout de six heures, nous avons constaté dans l'urine des trois grenouilles la présence de spermatozoïdes très mobiles, plus petits et plus trapus que ceux des crapauds. Si nous avions voulu caractériser la réponse par le système des +, nous aurions marqué simplement un +, puisque nous avons trouvé dans les trois cas seulement quelques rares spermatozoïdes par champ.

Au bout de vingt-quatre heures, les spermatozoïdes de deux grenouilles avaient disparu.

Nous avons sacrifié la troisième pour examiner ses testicules, qui, par rapport à des testicules témoins, paraissaient hypertrophiés. Là encore, les grosses variations individuelles ne permettent pas, en l'absence de laparotomie exploratrice préalable ou d'hémi-castration, d'être affirmatif. Nous n'avons rien remarqué au niveau des vésicules séminales... Mais tous ces faits demandent confirmation.

En somme, le comportement de *Rana esculenta* mâle vis-à-vis des injections de prolans, présente le même intérêt scientifique, sinon pratique, que celui de *Bufo vulgaris*.

La même réaction pratiquée chez la grenouille hypophysectomisée, opération très facile à faire chez ces animaux, permet une comparaison avec le test des mélanophores. Une grenouille décolorée a reçu sous la peau du dos, toujours par voie transmusculaire, 0,5 cm³ de la même urine de 3 mois concentrée : au bout d'une heure, on pouvait constater l'expansion des mélanophores ! Au bout de deux heures, l'émission de spermatozoïdes.

Un tel rapprochement des deux méthodes soulève une foule de problèmes passionnants ! Mis à part un perfectionnement pratique considérable des tests de grossesse, cette technique permettra peut-être d'élucider plus fermement le mystère qui règne encore sur les corrélations neuro-hormonales entre

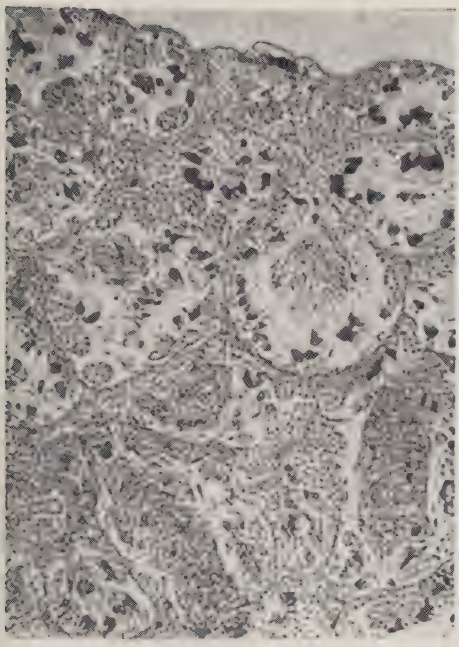
hypothalamus, pituitaire et gonades, d'individualiser plus encore le rôle autonome du placenta, et de savoir ce que signifie la présence de cette hormone mélanotrope dans la seule économie de la femme enceinte, puisque la technique de concentration des urines à l'alcool — où la mélanotrope est soluble — ne paraît pas enlever à l'urine tous ses principes mélanophorodilatateurs !

Diagnostic couplé lapine-crapaud (diagnostic clinique éventuel). Expériences d'hémi-castration.

N° d'ordre	Produits injectés	OBSERVATIONS	Lapine	Crapaud	Evolution
10	½ cm³ urine	Mme Fou... Retard de règles ..	—	—	
11	4 cm³ urine	Mme Ver... Retard de règles ..	—		
12	4 cm³ urine	Mme Per... Métrorragies G.E.U.?	—		Pas de grossesse
13	4 cm³ urine	Mme Mou... Retard de règles, gros utérus	—	—	Annexite.
14	2 cm³ sérum	Mme N...	—		
15	4 cm³ urine	Mme R... Aménorrhée	—	—	Biopsie.
16	4 cm³ urine	Mme N...	—	—	
17	4 cm³ urine	Mme Gur... Fibrome	—	—	Règles.
18	4 cm³ urine	Mme Rad... Métrite chronique, arrêt des règles	—	—	
19	2 cm³ sérum	Mme N...	—	—	
20	3 cm³ urine	Mme Ber... Pyosalpinx (G.E.U. dans les antécédents)	—	—	Salpingectomie.
21	4 cm³ urine	Mme N...	—	—	
22	3 cm³ urine	Mme Rio...	++	+ +	
23	4 cm³ urine	Mme Bon...	+++	+ + +	
24	4 cm³ urine	Mme N...	++ +	+	
25	4 cm³ urine	Mme Cam... Appendicite et grossesse?	+ +	+ + +	Grossesse.
26	2 cm³ sérum	d°		+ +	d°
27	4 cm³ urine	Mme N...	+ + +	+ + +	
28	4 cm³ urine	Mme Ram... Ovariosalpingectomie droite pour kyste lutéinique. Pas de retour de règles. Utérus gros et mou..	+	+ +	
29	4 cm³ urine	d°		+ +	Grossesse.
30	4 cm³ urine	Mme N.	+	+ +	
31	2 cm³ sérum	Mme N.	+ + + +	+ + + +	
32	4 cm³ urine	Mme Pie...	+ + +	+ +	
33	4 cm³ urine	Mme N	+ + +	+ + +	
34	2 cm³ sérum	Mme N... (44 ans)	+ + +	+ + + +	
35	4 cm³ urine	Mme Arr... Grossesse de 4 mois et pertes. Môle?	+ + +	+ +	Grossesse normale.
36	4 cm³ urine	Mme Lapl... Métrorragies, sulfamides	morte?	+ +	Abortus manqué.
37	4 cm³ urine	Mme Pas... Tumeur abdomino-pelvienne	1 foll. ?	—	
»	4 cm³ urine	d°		—	
38	20 cm³ urine concentrée	d°	—	—	Fibrome.
39	3 cm³ urine	Mme Mai... Pas de règles, col mou, utérus variable	—	+	
40	3 cm³ urine (4 j. + tard)	d°		+ +	
41	3 cm³ urine (10 j. + tard)	d°		+ +	Grossesse probable.
42	3 cm³ urine	Mme N... (retard de règles?)..	+ + +	—	
43	4 cm³ urine	Mme Th... Retard de règles, hémorragies préménop.? ...	morte	+	
44	3 cm³ urine (6 j. + tard)	d°		—	Avortement.
45	4 cm³ urine	Mme Cl... Avortement		+ +	Curetage
46	4 cm³ urine (3 j. + tard)	d°		—	
47	4 cm³ urine	Mme Car... Eclampsie accouchée la veille		+ +	
48	4 cm³ urine	Mme Co... (grossesse 8,5 m.) ..		+ +	Accouchement.
49	3 cm³ urine	Mme Bo... Retard 12 jours		—	
»	3 cm³ urine	d°		+ +	
50	3 cm³ urine	» Retard 14 jours		+	
51	3 cm³ urine	d°		—	
	3 cm³ urine	d°		+ +	Grossesse.
52	4 cm³ urine	Mlle Mar... Maladie de Cushing		—	
53	4 cm³ urine	Mme Du... Cysto-épithéliome de l'ovaire		—	
54	0,5 cm³ extrait	Urine 3 mois 1/2 concentrée 10/1		+ + + +	
55	0,5 cm³ extrait	....		hémi-castré	
56	0,5 cm³ extrait	.....		d°	
57	0	....		d°	
58	4 cm³ urine négative	.....		d°	

COUPES DE TESTICULES DE « BUFO VULGARIS »

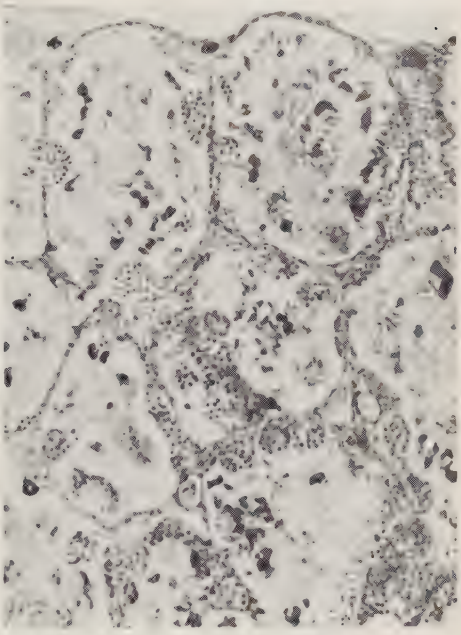
Faible grossissement.



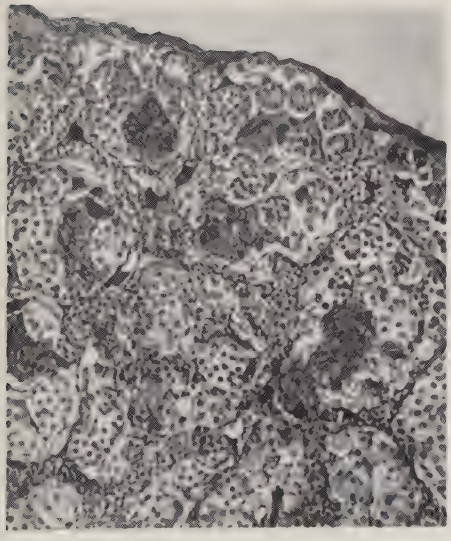
Crapaud 56.

Testicules-témoins
avant injection.
Crapaud 55.

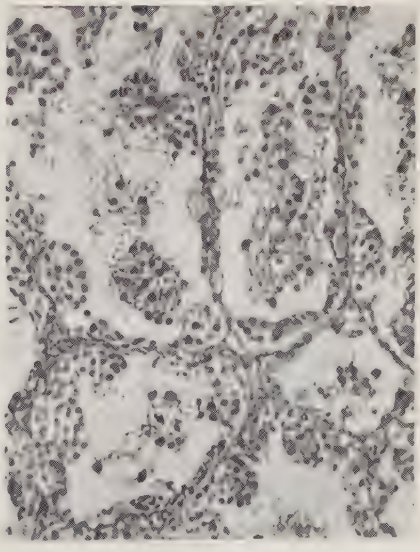
Faible grossissement.



Testicules du crapaud 55
après injection de prolans.



Fort grossissement.



Fort grossissement.

L'étude de ces coupes a été faite p 106-109.

CONCLUSIONS

I. — Au cours d'un rappel des tests de grossesse, nous avons souligné l'importance des travaux modernes en ce qui concerne les nouvelles méthodes pharmacologiques, ainsi qu'en ce qui concerne le dépistage d'une hormone mélanotrope gravidique à l'aide de la patte de grenouille hypophysectomisée. Nous avons repris les théories de la sécrétion des hormones gonadotropes en opposant, selon la tendance actuelle, hormones d'origine hypophysaire et hormones d'origine choriale. Nous avons alors fait le point des derniers progrès réalisés dans l'utilisation des rongeurs et des dernières découvertes, parmi les batraciens, d'animaux-tests du sexe femelle puis du sexe mâle; en particulier, *Xenopus laevis*, *Bufo arenarum*, *Rana pipiens*, *Bufo vulgaris* et *Rana esculenta*.

II. — Nous nous sommes attaché à éclaircir la biologie du testicule, en insistant sur le fait que la spermatogénèse des vertébrés inférieurs est un phénomène cyclique sous la dépendance du complexe hypo-pituitaire et influencé par des excitants propres à l'ambiance et par des hormones particulières telles que les prolans.

III. — Le crapaud vulgaire mâle *Bufo vulgaris* est un animal très répandu en France. Ses caractères morphologiques, physiologiques, ses instincts et le rôle qu'il joue ou a joué dans les croyances populaires et dans la médecine sont intéressants à connaître.

IV. — Le crapaud mâle peut être utilisé en vue d'un diagnostic biologique de la grossesse. Les prolans provoquent

dans son tractus uro-génital, en moins de cinq heures, une émission anormale de spermatozoïdes que l'on caractérise en examinant une goutte d'urine — prélevée dans le cloaque selon une technique simple — entre lame et lamelle, au microscope.

Cette émission de spermatozoïdes mobiles en plus ou moins grand nombre n'a été obtenue jusqu'ici que par des injections de principes de sérum de jument gravide, ou d'urines de femme enceinte — ou supposée telle, d'après la réaction de Brouha pratiquée simultanément. Nous n'avons pas pu juger l'effet des injections d'hormones gonadotropes anté-hypophysaires, n'ayant pu nous en procurer.

28 comparaisons des deux tests à la lapine et au crapaud ont permis de constater un parallélisme dans 12 cas négatifs et 12 cas positifs, une opposition dans 2 cas, tandis que le crapaud tranchait le diagnostic dans 2 cas demeurés douteux avec la lapine.

V. — La réaction est avant tout précoce, rapide, pratique et économique. Des statistiques plus importantes préciseront si elle est aussi constante, sensible et spécifique que nos premières recherches permettent de l'espérer.

En outre, les urines de femme peuvent être remplacées par le sérum.

VI. — Une technique d'hémi-castration avec examen histologique du testicule témoin prélevé dans un premier temps, et du testicule soumis à l'action des prolans prélevé dans un second temps, a permis de constater des modifications importantes de la glande. Nous avons essayé de faire une étude critique de ces phénomènes.

VII. — Nous avons envisagé l'extension de la méthode et la possibilité d'obtenir chez le mâle hypophysectomisé de la grenouille verte un double test, basé sur la production des spermatozoïdes, associée à la dilatation des mélanophores de la patte postérieure de l'animal.

SERMENT

En présence des Maîtres de cette Ecole, de mes condisciples, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la Médecine.

Je donnerai mes soins à l'indigent et n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail. Admis dans l'intérieur des maisons, mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe, ma langue taira les secrets qui me seront confiés, et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs ni à favoriser le crime.

Reconnaissant envers mes Maîtres, je tiendrai leurs enfants et ceux de mes confrères pour des frères, et, s'ils devaient apprendre la médecine ou recourir à mes soins, je les instruirais et les soignerais sans salaire ni engagement.

Si je remplis ce serment sans l'enfreindre, qu'il me soit donné de jouir heureusement de la vie et de ma profession, honoré à jamais parmi les hommes, et, si je le viole et que je me parjure, puissé-je avoir un sort contraire.

Vu : *Le Doyen*,
R. DUPÉRIÉ.

Vu, bon a imprimer :
Le Président,
RIVIÈRE.

Vu et permis d'imprimer
Bordeaux, le 21 juillet 1948.
Le Recteur de l'Académie,
A. MARCHAUD.

BIBLIOGRAPHIE

Nous renvoyons, pour la partie « Hormonologie sexuelle » antérieure à 1939, aux bibliographies remarquables de MM. R. Rives, *Un nouveau test de grossesse* (thèse de Bordeaux, 1947); R. Courrier, *Endocrinologie de la gestation* (Masson, Paris, 1945); Allen, Danforth et Doisy, *Sex and internal secretions* (Williams & Wilkins, Baltimore, 1939).

Angel (F.). — Vie et mœurs des amphibiens, Payot, Paris, 1947

Aron (M.). — Recherches morphologiques et expérimentales sur le déterminisme des caractères sexuels secondaires chez les animaux. *Arch. biol.*, 36, 1, 1926.

— Recherches sur les facteurs du cycle spermatogénétique chez les batraciens; conditions internes d'évolution de gonocytes. *C. R. Soc. biol.*, 98-221, 1928.

Ascheim (S.). — Méthode simplifiée pour le diagnostic biologique de la grossesse. *Sem. hôp. Paris*, 21, 912, 1945.

Béclère (C.), Simonnet (H.). — Quest. gynéc. actuel. *Exp. scient. fr.*, avril 1942.

Bellerby (C. W.). — *Nature*, London, 133, 494, 1934.

Blanche (J.). — Etude sur les causes d'erreur du test de Friedman. Thèse de Bordeaux, 1935.

Bouc (R.). — Diagnostic biologique de la grossesse par les tests animaux. Thèse Bordeaux, 1931.

Boulenger (G.-A.). — Les batraciens. Douin, Paris, 1910.

Bourguignon (G.). — *Ann. biol. clin.*, 4e année, 5, 132, 1946.

Bugnon et Popoff. — La signification des faisceaux spermatiques. *Bibliogr. anat.*, XVI, 1, 1907.

Bubler. — Spermatogenese bei Bufo vulgaris. *Verhandlung. der Anat. Geselschaft*, 1895.

Bunde (C. A.). — Evaluation of test based on ovarian hyperemia in immature rat. *Am. J. Obst. & Gyn.*, 53, 317, 1947.

Buytendijk (F. J. J.). — L'instinct d'alimentation et l'expérience chez les crapauds. *Arch. Neerl. Physiol. Hom. Anim.*, Sie III, II, 217, 1918.

Champy (C.). — Recherches sur la spermatogénèse des batraciens et les éléments accessoires du testicule. *Arch. Zool. Exp. Génér.*, 52, 13, 1913.

Chauchard (B. et P.). — Action de l'urine des femmes enceintes sur l'excitabilité utérine. *C. R. Soc. de biol.*, 138, 734, 1946.

Chauchard (B. et P.) et Lecocq (R.). — *Ann. biol. clin.*, 1946 (juin) et 1947 (mars-avril).

Cheymol (J.) et Henry (R.). — Examen critique des méthodes d'appréciation des hormones choriales. *Rap. Congrès int. de biol. clin.*, 1, 220, 1948.

Cornilleau (R.). — Expérimentation clinique du venin de crapaud dans le traitement du cancer. Comm. Soc. path. comp., Paris, 8 mars 1938.

— La Bufothérapie. Vigné, Paris, 1938.

— L'action biologique générale du venin de crapaud. *Presse méd.*, n° 18, 4 mars 1939.

— Le crapaud qui guérit. Flammarion, Paris, 1941.

Dally (P.). — Pregnancy tests in antiquity. Mém. Soc. franç. d'hist. méd., 1, 64, 1945.

Douglas. — *West. Journ. Surg. Obst. Gyn.*, avril 1945.

— Méd. et Hyg., Genève, 59, 1945.

Dubreuil (G.) et Rivière (M.). — Morphologie et histologie des corps progestatifs. Vigot, Paris, 1947.

Duval (Mathias). — Recherches sur la spermatogénèse chez la grenouille. *Rev. sc. nat.*, série 2, II, 121, 1878.

Elkan (R. E.). — Le test *Xenopus* de la grossese, *Brit. Med. J.*, 1253, 17 déc. 1938.

— L'épreuve de grossesse *Xenopus*. *Presse méd.*, 25 févr. 1931, 16, 308.

— *Xenopus laevis* test. *Human. Fertil.*, 11, 103, 1946.

— New test (*Xenopus*). *Post. Grad. M. J.*, 22, 87, 1946.

Foote (E. C.), Jones (G. E. S.). — Hogben (*Xenopus*) test; evaluation. *Am. J. Obst. & Gyn.*, 51, 685, 1946.

Fuhrman (O.). — L'hermaphrodisme chez *Bufo vulgaris*. *Rev. suisse zool.* 21, n° 11, juin 1913.

Gallien (L.). — Réactivité du *Xenopus lævis* aux gonadotrophines. *C. R. Acad. sc. Paris*, 5 avr. 1942, 226, 1141.

Galli-Mainini (C.). — Un nouveau test de diagnostic de grossesse: *Semana Medica*, 54, 337, 1947; *J. of clinic. Endocr.*, 7, 653, 1947.

Gennes (L. de). — Un nouveau test de grossesse. *Presse méd.*, 25 oct. 1947.

Grellet. — Praxis, Berne, 5, 69, 1944.

Grimaldi. — Soc. Gyn. Obst. Paris, 3 mai 1943.

Guterman (H. S.). — Value of pregnandiol test (of urine), further observations. *J. Clin. Endocr.*, 5, 407, 1946.

Hinglais (H. et M.). — *Sem. Hôp. Paris*, 1er févr. 1941.

— Action des gonadotrophines hypophysaires ou chorioniques sur le crapaud mâle indigène adulte (*B. vulgaris et calamita*); application au diagnostic biologique de la gestation.

— *C. R. Ac. Sc.*, 226, 1041, 1948.

— *C.-R. Ac. Sc.*, 226, 1046, 1948.

Hogben (L.) et Bellerby (W.). — Experimental Studies on the sexual cycle of the South African claved toad. *Brith. J. Exp. Biol.*, janv. 1938.

Houssay (B.), Lascano Gonzalès (J. M.). — L'hypophyse et le testicule chez le crapaud *Bufo marinus*. *C. R. Soc. biol.*, 101, 938, 1929.

— *C. R. Soc. biol.*, 130, 957, 1939.

Jayle (M.-F.), Lacomme, Crépy, Vandel, Judas. — Soc. endocr., 25 mai 1945.

Jayle (M.-F.), Ljbert (O.). — *Ann. biol. clin.*, n° 2, 93, 1947.

Jensen (O.-S.). — Recherches sur la spermatogénèse. *Arch. biol.*, vol. 4, 1883.

Joël (C. A.). — Hogben test, in comparison with gravimetric determination of chorionic gonadotropins in early and pathologic pregnancy. *Schweiz. Med. Wehnsch.*, 76, 1106, 1946,

Kaminester. — *An. J. Obst. Gyn.*, févr. 1944.

Kehl (R.). — Action d'extraits d'hypophyse antérieure de mammifères sur la ponte des batraciens. *C. R. Soc. biol.*, 103, 744, 1930.

— Action de certains extraits antéhypophysaires sur le tractus génital des batraciens. *Bull. Soc. hist. nat. Afrique du Nord*, 21, 4, 1930.

Kline (B. S.). — Salmon-Geist, Salmon-Frank 6 hour rat test. *Am. J. Clin. Path.*, 14, 557, 1944.

Lataste (F.). — Essais d'une faune herpétologique de la Gironde. *Actes de la Soc. linn. de Bordeaux*, S. 3, t. X, p. 195, 1875.

— Mémoire sur les brosses copulatrices des Anoures. *Ann. sc. nat.* (6), III, n° 10, 1876.

Mello (M. I.). — Diagnostico precoce de gravidez pela reaçaô de Mainini em alguns anfibios brasilenos. *Hospital Rio*, 33, 57, 1948.

Milton (R. F.). — *Brit. Med. J. Londres*, 4, 470, 328, 1946.

Morel (F.) et Crosnier (R.). — Diagnostic hormonal de la grossesse. *Documentation du biologiste praticien*, n° 2, p. 115, 1947.

Moricard (F.). — Hormonologie sexuelle humaine. Masson, Paris, 1943.

Papanicolaou (G. N.). — Diagnosis of pregnancy by cytologic criteria in catherized urine. *Proc. Soc. Exp. Biol. N. Y.*, 67, 242. 1948.

Perrier (E.). — Traité de zoologie. Masson, Paris, 1925.

Phisalix (M.). — Animaux venimeux et venins. Masson, Paris, 1922.

Piéchaud (P.), Servantie (L.) et Bouc (R.). — Tests biologiques de grossesse. *J. de méd. de Bordeaux*, 8, 221, 1931.

Ponse (K.). — L'organe de Bidder et le déterminisme des caractères sexuels secondaires du crapaud *Bufo vulgaris*. *Rev. suisse de zool.*, 31, 177, 1926.

Reinhort (H. L.) & Bornes (A. C.). — Evaluation of Guterman test in clinical prâctice. *J. Clin. Endoc.*, 6, 664, 1946.

Robbins (S. L.), Parker (F.) et Bianco (P. D.). — La réaction du crapaud mâle armé de l'Afrique du Sud aux gonadotropes. *Endocr.*, mars 1948.

Robertis (E. de), Gurgas (M. H.) & Breyter (E.). — *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 4, 20, 1946.

Rostand (J.). — La vie des crapauds. Stock, Paris, 1947.

Rugh (L. R.). — *Prop. Soc. Exp. Biol. and Medica*, 36, 418, 1937.

— *J. of Exp. Zool.*, 80, 81, 1939.

Sala (S. L.), Orenalla (D.) & Lascano-Gonzalez (J. M.). — Accelerated Aschheim-Zondek test; 2 hour test. *An. d. ateneo*, Buenos-Ayres, 85, 1945.

Servantie (L.), Cambar (R.), Moretti (G.-F.), Bonnal (R.). — Technique d'hypophysectomie chez la grenouille. Mise en application du test des mélanophores. Causes d'erreur, intérêt. *Soc. de biol. de Bordeaux*, 8 juin 1946, p. 41.

— *Biologie médicale*, janv. 1947.

Servantie (L.) et Chapoux (R.). — Utilisation du crapaud mâle *Bufo vulgaris* et de la grenouille mâle *Rana esculenta* dans le diagnostic de la grossesse. *C. R. Soc. biol.*, 16 juin 1948.

Shapiro (H. A.). — *J. Exp. Biol.*, 13, 1948, 1936.

Shapiro (H. A.) & Zwarenstein (H.). — *Nature*, London, 133, 339, 1934.

— *Nature*, London, 133, 762, 1934.

Siegler (S. L.) et Fein (M. J.). — *Amer. J. Obst. Gyn.*, 38, 1021, 1939.

Soskin (J.). — *Am. Med. Assoc.*, 114, n° 21, 2090, 1940.

Suchet. — *Am. Biol. Clin.*, janv. 1946.

Swaen et Masquelin. — Etudes sur la spermatogénèse. *Arch. biol.*, vol. IV, 1883.

Vivien (J.). — Hormones gonadotropes hypophysaires et prolans urinaires. — *Concours médical*, 17 avr. 1948, 779.

Wattenwyl (H. Von). — *Xenopus* test. *Gynecologia*, 121, 29, 1946.

Weisman et Coates. — *West J. Surg. Obst. Gyn.*, avr. 1944.

— *Med. et Hyg.*, n° 59, 1er oct. 1945.

Welti (E.). — Evolution des greffes de glandes génitales chez le crapaud (*Bufo vulgaris*). *Rev. suisse de zool.*, 35, 75, 1928.

Wiltberger et Miller. — La grenouille mâle *Rana pipiens*, nouvel animal-test pour le diagnostic précoce de la grossesse. *Science*, 107, 198, 1948.

Zondek (B.), Sulman (F.) & Black (R.). — Hyperemia effect. of gonadotropins in ovary; use in rapid test. *J. A. M. A.*, 128, 939, 1945.

Zonder (B.) & Sulman (F.). — 1945, Twenty four hour test for equins. *Nature*. London, 155, 302, 1945.

TABLE DES MATIERES

Pages

AVANT-PROPOS 11
INTRODUCTION 13

CHAPITRE I. — **La recherche d'un test de grossesse** 16
Tests anciens et modernes 16
Le diagnostic de la grossesse par la recherche des hormones spécifiques 20
Les différents tests biologiques classiques 32
A. Les rongeurs 32
B. Les batraciens 38

CHAPITRE II. — **Biologie du testicule** 43
Activité endocrinienne 44
Activité spermatogénétique 45

CHAPITRE III. — **Le crapaud vulgaire** 55
Classification 55
Description 55
Organisation 59
Mœurs 66
Physiologie sexuelle 67
Techniques d'élevage 68
Crapaud et Médecine 71

CHAPITRE IV. — **Le crapaud animal-test** 74
Utilisation 74
Réponse aux injections 78
Prolans 78
Produits divers 81
Application pratique 85

CHAPITRE V. — **Critiques de la réaction** 89

CHAPITRE VI. — **Les expériences d'hémi-castration** 98
Technique 99
Applications de la méthode 101
A. Frottis de testicules 102
B. Coupes de testicules 103
C. Discussion critique 109

CHAPITRE VII. — **Extension de la méthode** 113
TABLEAU RECAPITULATIF 116
COUPES DE TESTICULES DE « BUFO » 117
CONCLUSIONS 119
BIBLIOGRAPHIE 122

Dépôt légal en 1951 (3e trimestre).

25714. — IMPRIMERIES DELMAS, Bordeaux (31.0192).